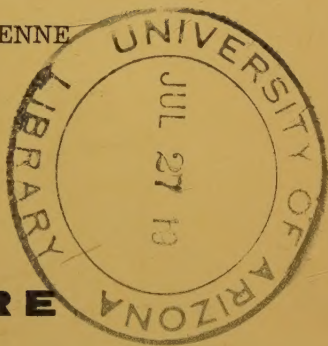


ARCHIVES

DE

L'INSTITUT DE BOTANIQUE

sous la direction
du Professeur R. BOUILLENNE



SOMMAIRE

PHYSIOLOGIE VEGETALE

1. R. BOUILLENNE. La lumière artificielle en Horticulture.
2. R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. Les activités du Centre de Recherches des Hormones végétales.
3. R. BOUILLENNE. Quelques aspects actuels de la Physiologie de la mise à fleurs.
4. M. BOUILLENNE-WALRAND. Action des Gibbérellines sur la croissance et la floraison des végétaux supérieurs. Relations avec l'Acide B indol-acétique.
5. M. BOUILLENNE-WALRAND et R. BOUILLENNE. Substances de croissance et Chlorophylle. I) Action de la Gibbérelline sur les teneurs en Chlorophylle de mutants génétiques nains de Maïs (Dr. Phinney). — II) Action de la Gibbérelline et de l'acide B indol-acétique (A.I.A.) sur une variété normale de Maïs (« Spancross »).
6. M. BOUILLENNE-WALRAND, M. PACQUE-GILSON et R. BOUILLENNE. Rapports existant entre l'A.I.A. libre et la mise à fleurs chez *Hyoscyamus niger* L.

7. M. BOUILLENNE-WALRAND et R. BOUILLENNE. Sur l'isolement et les propriétés d'un nouveau complexe amylolytique puissant l'*Eminase*, extrait de *Eminia* sp.
8. E. COLONVAL-ELENKOVA. Observations et expériences sur la sexualisation du Prothalle de *Lygodium japonicum* S. W. en milieu stérile et conditionné.
9. Ph. R. WHITE. Contribution apportée à la connaissance du Cancer par la technique de la culture des tissus.
10. G. BERNIER et A. LAMBRECHTS (Institut de Botanique et Clinique pédiatrique). Etude sur les boissons fermentées indigènes du Katanga.

PHYTOSOCIOLOGIE ET ECOLOGIE

11. R. BOUILLENNE. A propos des Parcs Nationaux du Congo Belge.
12. P. DEUSE. Etude écologique et phytosociologique de la végétation des « Esobe » de la région Est du lac Tumba (Congo belge).

CORRESPONDANCES ET ECHANGES

Pour tout ce qui concerne les **Archives de l'Institut de Botanique de l'Université de Liège**, nous vous demandons de vouloir bien envoyer la correspondance à l'adresse suivante :

M. le Secrétaire des
**Archives de l'Institut de Botanique
 de l'Université de Liège**
 3, rue Fusch, Liège
 (Belgique)

ARCHIVES

DE

L'INSTITUT DE BOTANIQUE

sous la direction
du Professeur R. BOUILLENNE

SOMMAIRE

PHYSIOLOGIE VEGETALE

1. R. BOUILLENNE. La lumière artificielle en Horticulture.
2. R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. Les activités du Centre de Recherches des Hormones végétales.
3. R. BOUILLENNE. Quelques aspects actuels de la Physiologie de la mise à fleurs.
4. M. BOUILLENNE-WALRAND. Action des Gibbérellines sur la croissance et la floraison des végétaux supérieurs. Relations avec l'Acide B indol-acétique.
5. M. BOUILLENNE-WALRAND et R. BOUILLENNE. Substances de croissance et Chlorophylle. I) Action de la Gibbérelline sur les teneurs en Chlorophylle de mutants génétiques nains de Maïs (Dr. Phinney). — II) Action de la Gibbérelline et de l'acide B indol-acétique (A.I.A.) sur une variété normale de Maïs (« Spancross »).
6. M. BOUILLENNE-WALRAND, M. PACQUE-GILSON et R. BOUILLENNE. Rapports existant entre l'A.I.A. libre et la mise à fleurs chez *Hyoscyamus niger* L.

7. M. BOUILLENNE-WALRAND et R. BOUILLENNE. Sur l'isolement et les propriétés d'un nouveau complexe amylolytique puissant l'*Eminiase*, extrait de *Eminia* sp.
8. E. COLONVAL-ELENKOVA. Observations et expériences sur la sexualisation du Prothalle de *Lygodium japonicum* S. W. en milieu stérile et conditionné.
9. Ph. R. WHITE. Contribution apportée à la connaissance du Cancer par la technique de la culture des tissus.
10. G. BERNIER et A. LAMBRECHTS (Institut de Botanique et Clinique pédiatrique). Etude sur les boissons fermentées indigènes du Katanga.

PHYTOSOCIOLOGIE ET ECOLOGIE

11. R. BOUILLENNE. A propos des Parcs Nationaux du Congo Belge.
12. P. DEUSE. Etude écologique et phytosociologique de la végétation des « Esobe » de la région Est du lac Tumba (Congo belge).

CORRESPONDANCES ET ECHANGES

Pour tout ce qui concerne les **Archives de l'Institut de Botanique de l'Université de Liège**, nous vous demandons de vouloir bien envoyer la correspondance à l'adresse suivante :

M. le Secrétaire des
**Archives de l'Institut de Botanique
 de l'Université de Liège**
 3, rue Fusch, Liège
 (Belgique)

lumière artificielle en Horticulture *

par R. BOUILLENNE,

Professeur à l'Université de Liège

Directeur du Laboratoire du Phytotron.

EST DES RÉGIONS où les climats ne sont pas favorables aux plantes tout au long de l'année et où les périodes de la vie végétale sont relativement courtes. Depuis longtemps, il a paru nécessaire de protéger certaines espèces utiles contre l'hiver et prolonger les conditions dans lesquelles se déroulent leurs activités. C'est pour-
l'on construit des enceintes vitrées qui permettent de maintenir une ambiance appropriée aux exigences de chacune d'elles : les moyens d'obtenir la température, l'humidité et l'aération désirables ont été progressivement perfectionnés. Quant à la lumière, elle est celle du soleil — facteur variable au cours des jours et au cours des années, suivant l'évolution des saisons.

Si la Rome impériale n'avait pas encore inventé les serres, puisque le latin n'a laissé aucun terme à ce sujet, elle avait cependant des « *clausa* » où les plantes précieuses pouvaient être enfermées. Aujourd'hui, la technique des serres est au point, adaptée en ce qui concerne la lumière : chez la plupart des praticiens, les cultures restent toujours soumises aux fluctuations de la lumière naturelle et subissent, en hiver, un éclairage trop faible et des jours trop courts.

Les mois pendant lesquels les végétaux en serre sont mal éclairés déterminent l'arrêt de la croissance et du développement. Le déroulement du cycle biologique est ainsi freiné mais aussi sont ralentis les phénomènes fondamentaux par lesquels la lumière est absorbée et utilisée par les feuilles. Nous disons phénomènes fondamentaux parce que cela ne concerne pas seulement le monde végétal.

Les végétaux verts sont les seuls êtres vivants capables de faire la synthèse des sucres, point de départ de tous les autres aliments : graisses, protéines, etc., à condition qu'ils soient éclairés.

Grâce à la chlorophylle, pigment vert des feuilles, à la lumière, les cellules végétales transforment une certaine partie de l'énergie solaire en énergie chimique utilisable. Les réactions de synthèse des sucres se font à partir de corps simples : carbone, eau, le gaz carbonique, les sels minéraux.

Les végétaux sont donc des convertisseurs de l'énergie solaire et des transformateurs de la matière minérale en matière organique : c'est le soleil qui est la source de toute cette providentielle activité appelée photosynthèse. Il est des régions où il serait important pour la végétation qu'il soit plus actif ou plus haut sur l'horizon et où il serait utile de le suppléer ou de le remplacer.

Le vieux rêve des hommes de remplacer la lumière du soleil par la lumière artificielle a pris corps avec la production abondante de la lumière électrique. Les effets de celle-ci sur la croissance des plantes ont été expérimentés depuis de nombreuses années et se sont montrés d'un intérêt considérable.

Quel est le rôle de la lumière naturelle ? Qu'apporte-t-elle aux végétaux que la lumière électrique doit remplacer ?

Et tout d'abord qu'est-ce que la lumière ?

D'après NEWTON, qui a étudié le passage de la lumière à travers un prisme, la lumière blanche est née de la fusion des 7 couleurs de l'arc-en-ciel ; chacune de ces couleurs étant constituée de radiations simples ou monochromatiques.

En 1704, NEWTON ne semble pas avoir deviné l'existence de la lumière invisible à l'œil humain : l'ultra-violet et l'infra-rouge — ce dernier a été découvert par HERTZ, en 1887 !

Pour NEWTON, la lumière est constituée par des particules de matière. Tandis que pour HUYGENS et surtout FRESNEL, il s'agit d'ondes se propageant dans un milieu extrêmement subtil, l'éther.

Ces deux hypothèses sur la nature de la lumière se sont opposées jusqu'à ces derniers temps.

Aujourd'hui, l'on pense que la lumière est formée de corpuscules de matière, les Photons, se déplaçant à la vitesse de 300.000 km/seconde, non pas sur une trajectoire rectiligne mais pilotés sur des ondes.

La longueur des ondes dépend de la grosseur des particules de Photon et détermine la couleur de la lumière. La longueur d'onde est d'autant plus courte que les particules ont plus de masse et la fréquence des vibrations, c'est-à-dire le nombre d'oscillations par seconde, en est d'autant plus serrée.

Chaque Photon tient une quantité d'énergie appelée Quantum, proportionnelle à la fréquence de la vibration de l'onde qui porte le Photon et, par conséquent, la quantité d'énergie est inversement proportionnelle à la longueur d'onde.

Ainsi donc, les Photons portés sur de grandes longueurs d'onde — infra-rouge extrême rouge et rouge (de 15.000 à $\pm 7.000 \text{ \AA}$) — sont des projectiles de faible énergie ; ceux des rayons bleus, violets, ultra-violet portés par des ondes courtes (moins de 4.000 $\text{\AA}$) sont plus énergétiques. Le maximum d'énergie existe dans les ondes de très courtes longueurs, comme les rayons de 1/1.000 $\text{\AA}$, pouvant même ne pas exister dans la lumière solaire et être produits artificiellement. De tels Photons sont très percutants et peuvent détruire des molécules.

Ces rapports entre masse corpusculaire, longueur d'onde et fréquence de vibration nous font comprendre que chaque rayon lumineux est porteur d'une énergie précise et la distribue au point d'impact de manière discontinue. D'après PLANCK, l'énergie portée par un Photon est égale au produit de la constante de PLANCK (h), par la fréquence de la vibration de l'onde considérée (V), selon l'équation : $E = h \cdot V$

On calcule, par exemple, qu'un Photon en lumière rouge (grande longueur d'onde) porte une énergie de 3×10^{-12} ergs, tandis qu'un Photon en lumière violette (courte longueur d'onde) porte une énergie de 6×10^{-12} ergs, révélant ainsi que entre les lumières des deux extrémités du spectre visible, il y a un rapport énergétique allant du simple au double, par Photon émis.

Lorsque les feuilles vertes sont frappées par le bombardement des Photons émis par le soleil quelque 8 minutes auparavant, qu'arrive-t-il ?

Certains Photons sont réfléchis, d'autres traversent le limbe foliaire et une partie est absorbée. Les Photons réfléchis sont principalement ceux de la région violette du spectre ; c'est d'ailleurs la raison qui fait que les plantes paraissent vertes. Les Photons traversant l'épaisseur des feuilles sont évidemment sans action ; ceux qui sont absorbés sont principalement les rayons violets et bleus ainsi que les rayons orange et rouges en dessous de 7.000 $\text{\AA}$. Ils correspondent en gros au spectre d'absorption de la chlorophylle.

D'après RABINOVITCH, l'un des plus grands spécialistes en matière de photosynthèse, de la lumière solaire incidente qui touche une feuille, 40 % seulement appartient à la zone du spectre dans laquelle la chlorophylle sélectionne les rayons utiles à la photosynthèse.

A présent, le problème qui se pose est de connaître l'efficacité des divers rayons absorbés, dans le rendement de la photosynthèse des glucides proprement dits, et de rechercher quelles autres réactions photochimiques interviennent dans certains mécanismes physiologiques de croissance ou de mise à fleurs.

De l'ensemble du spectre solaire, les feuilles vertes n'utilisent que les rayons existant dans 40 % du spectre total, compris entre le violet et l'infra-rouge, c'est-à-dire qu'elles n'utilisent ni l'ultra-violet ni le lointain infra-rouge et que dans le spectre visible elles ne prennent qu'un certain nombre de Photons, qui correspondent

Il est donc superflu de concevoir un éclairage artificiel rentable qui émettrait les 60 % du spectre solaire inutiles aux plantes. Autrefois, on ne disposait de lampes à incandescence qui émettent surtout dans l'extrême rouge et l'infrarouge et dans ce cas, 95 % du flux énergétique sont inutiles et même nuisibles, comme l'a montré RABINOVITCH.

Certes, nous avons pu, dans le cadre du laboratoire de la biologie de la betterave à Tirmont, dès 1939, obtenir, en chambre conditionnée et sous un éclairage uniquement à incandescence, le cycle biologique complet de la betterave, de la graine à graine, mais ce fut au prix de précautions techniques extrêmement coûteuses essitées par l'enlèvement du rayonnement thermique et d'une dépense d'électricité énorme, qui en rendait non rentable l'application pratique. De plus, la croissance des betteraves n'a été obtenue sous ces lampes à incandescence qu'en augmentant de manière extrême l'intensité de l'éclairage.

Aujourd'hui, les lampes à lumière fluorescente à faible dégagement de chaleur constituent un moyen d'éclairage beaucoup plus judicieux et économique. De plus, la composition spectrale peut être établie de manière à satisfaire spécialement les exigences des végétaux en matière de photosynthèse, de croissance et de développement.

C'est ainsi que, en 1953, nous avons été amenés, dans les laboratoires de R. S. I. A. et dans le Phytotron de Liège, à établir par tâtonnements progressifs, grâce à la comparaison de plantes soumises dans un même climat conditionné, à la lumière naturelle, et à des combinaisons diverses d'éclairages fluorescents, un type de lumière sous lequel les plantes étudiées se présentent avec le même aspect qu'à la lumière naturelle du mois de juin en Belgique et cela pour une même durée d'exposition.

Ce tube apporte aux feuilles vertes l'ensemble des Photons qui fait croître et fleurir normalement et cela pour un minimum d'énergie électrique dépensée. Evidemment, selon les espèces, il faut un éclairage plus ou moins intense : ainsi certaines plantes se contentent de ± 5.000 Lux de cette lumière horticole, d'autres, comme les graminées qui sont héliophiles, exigent une intensité plus grande, ± 11.000 Lux de cette même émission radiante. Mais, dans chaque cas, la dépense est au minimum puisque les rayons utiles ayant été sélectionnés, ils sont les seuls qui soient commercialisés. Il n'est donc plus nécessaire de pousser l'éclairage artificiel jusqu'à 20.000 à 25.000 Lux et nous sommes loin évidemment des 100.000 Lux émis par le soleil au midi un jour d'été.

Il apparaît dans les expériences en lumière artificielle que lorsque certaines longueurs d'onde sont absentes ou insuffisantes dans le spectre d'émission, les plantes peuvent se tirer d'affaire... mais, alors, il faut que l'intensité du rayonnement lumineux soit augmentée.

C'est ce qui explique que d'aucuns puissent dire que la nature des longueurs d'onde a moins d'importance qu'on ne l'a pensé naguère, puisqu'on peut y substituer une intensité globale du rayonnement visible plus élevée.

Que ceux qui n'ont pas peur de la dépense s'engagent dans cette voie.

Il est cependant d'autres faits à considérer ; il s'agit de l'action particulière de certains rayons dans le déroulement de la vie végétale. Nous avons vu que les Photons dans les différentes longueurs d'onde sont diversement chargés d'énergie et qu'un Photon dans le bleu portait à peu près 2 fois plus d'énergie qu'un Photon dans le rouge. Si, dans leur utilisation par les végétaux, les Photons ne comptaient que par leur charge d'énergie, il suffirait, pour obtenir un même effet dans le rouge et dans le bleu, d'égaliser les énergies en augmentant l'intensité du rouge, ainsi que MEYER a tout récemment montré, mais cela ne paraît vrai que dans une marge d'intensité extrêmement faible.

En réalité, au-delà de ce point critique et à énergie égale le rouge est qualitativement plus actif que le bleu dans le cadre, par exemple, des phénomènes de crois-

rouge est moins efficiente que la lumière bleue dans la formation de certains acides aminés essentiels comme l'alanine.

Il est donc clair que les rayons lumineux ont chacun leur action particulière sur les phénomènes vitaux et ceci est d'autant plus exact que les recherches récentes sur le photopériodisme ont montré qu'à côté de l'action de la durée quotidienne de l'éclairement sur la mise à fleurs, certains rayons interviennent d'une manière spécifique, captés qu'ils sont par des pigments spéciaux existant à côté de la chlorophylle.

Ainsi donc, en préparant systématiquement des lumières dont la composition en longueurs d'onde réponde aux besoins non seulement de la photosynthèse, mais aussi de la croissance et de l'induction florale, on peut obtenir, pour autant que l'intensité du rayonnement soit suffisante, tout au long de l'année et à bon compte, une production végétale analogue à celle des cultures en lumière naturelle estivale.

Les études récentes ont abouti à la constatation que l'induction photopériodique se réalise au mieux pour diverses espèces de plantes sous des longueurs d'onde différentes ; ainsi, par exemple, pour les Crucifères, la réaction inductive florale se passe sous les radiations de courte longueur d'onde (bleu), tandis que pour d'autres plantes, c'est sous le rouge que l'induction florale est obtenue. L'étude de tous ces phénomènes n'est pas terminée, ni en ce qui concerne les méthodes de mesure de l'énergie lumineuse dans les différentes longueurs d'onde ou dans l'émission globale, ni dans la question de l'efficacité des divers rayons absorbés.

Les cellules vertes et leur bagage pigmentaire sont d'une grande complexité. On n'est cependant parvenu à pénétrer dans les mécanismes biochimiques qui se passent non plus à l'échelle cellulaire mais bien dans les chloroplastes, c'est-à-dire dans ces organites qui, au sein des cellules, sont les porteurs des pigments et des enzymes. On a pu les extraire des cellules et les mettre dans des conditions telles qu'ils réalisent les synthèses photochimiques de la cellule toute entière.

De toutes ces recherches de science fondamentale découleront d'intéressantes applications pratiques ; mais, déjà maintenant, on peut dire que la *lumière artificielle* produite par les lampes fluorescentes à spectre d'émission systématiquement étudié doit rendre de grands services à l'horticulture, soit dans les serres où elle apporte des éléments d'appoint lumineux en intensité et en durée, soit dans des locaux conditionnés où elle peut, pour certains végétaux tout au moins, remplacer complètement la lumière du jour.



Les activités du Centre de Recherches des Hormones végétales

par

R. BOUILLENNE,

Professeur à l'Université de Liège,
Directeur du Centre

et

M^{me} M. BOUILLENNE-WALRAND,

Sous-Directeur du Centre.

Les recherches de la Physiologie végétale moderne exigent que l'expérimentateur puisse définir et préciser les conditions physiques, chimiques, climatiques dans lesquelles vivent les plantes dont il examine les réactions.

Avant 1939, on avait pu déjà déterminer à peu près complètement et avec exactitude les macro- et micro-constituants des solutions nutritives nécessaires à la vie des plantes; mais il n'en était pas de même des facteurs climatiques : températures diurnes et nocturnes, humidité, composition et vitesse de l'air, éclairement, etc... Les biologistes souhaitaient pouvoir disposer d'un appareillage qui permît de cultiver des plantes en milieu défini, indépendant des fluctuations climatiques naturelles, qui permît également de faire varier à volonté ces divers facteurs soit simultanément, soit séparément, et de repérer leur influence sur la croissance, la floraison et la fructification des végétaux.

Les conditions d'expérimentation devaient donc être totalement soustraites à l'influence du milieu extérieur et réglées automatiquement. Il ne pouvait s'agir d'une climatisation plus ou moins approchée comme dans les serres et les locaux climatisés, dont les variations

peuvent dépasser les limites entre lesquelles les plantes accomplissent leurs étapes physiologiques. (On sait, par exemple, aujourd'hui que certaines plantes fleurissent ou ne fleurissent pas pour un changement, même temporaire, de température de $\pm 3^\circ$, phénomène qui n'est pas perceptible dans une serre ordinaire.)

Les U.S.A., aidés par de puissants moyens financiers, réalisèrent cet appareillage pour la première fois. Millikan, prix Nobel de Physique, l'a appelé « Phytotron ». Il fut inauguré le 7 juin 1949 à Pasadena par F. Went, Professeur de Biologie au California Institute of Technology, qui en était le créateur.

Un an plus tard, le 4 novembre 1950, grâce aux subsides octroyés par l'I.R.S.I.A. (Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture), fut inauguré, dans les locaux de l'Institut de Botanique de l'Université de Liège, le premier Phytotron européen.

La réalisation de cet appareil est due à l'Ingénieur M. Hobin.

Le problème technique s'est révélé très difficile à résoudre, le climat de la Belgique étant beaucoup plus instable que celui de la Californie. Il fallait, par des températures extérieures de -23° à $+40^\circ$ C, réaliser et maintenir n'importe quelle température entre 15° C et 35° C avec des variations ne dépassant pas 1° C ; il fallait aussi pouvoir maintenir de façon constante n'importe quelle humidité relative comprise entre 40 et 95 %.

Le Phytotron de Liège est constitué de quatre unités indépendantes (fig. 1).

Le première unité comporte une vaste serre à double vitrage, trois chambres éclairées artificiellement, un sas d'entrée, une salle des machines comprenant un compresseur, une réserve d'eau glacée, une chaudière à vapeur, un conditionneur et de multiples vannes motorisées, commandées par des appareils électroniques.

L'ensemble serre-chambres obscures est conçu de telle sorte que la température et le pourcentage d'humidité y soient entretenus constants et identiques par un même courant d'air. Celui-ci passe d'abord au travers d'un conditionneur où il peut être réchauffé, refroidi, humidifié ou asséché à volonté grâce au fonctionnement des vannes automatiques qui commandent les circuits d'eau, de vapeur, etc...

L'air ainsi conditionné est lancé, par un ventilateur, dans une chambre de répartition située sous la serre et les chambres obscures; il pénètre dans ces locaux par le plancher, à travers une première série de tôles perforées à une vitesse d'environ $8 \text{ m}^3/\text{minute}$; un second étage de tôles réduit sa vitesse à $2,5 \text{ m}^3/\text{minute}$. Il retourne

Phytotron de Liège

4 Unités :

- a) Serre (I) et laboratoires obscurs (B.C.D.) réglables simultanément.
 b) 3 laboratoires obscurs indépendants (II, III, IV).

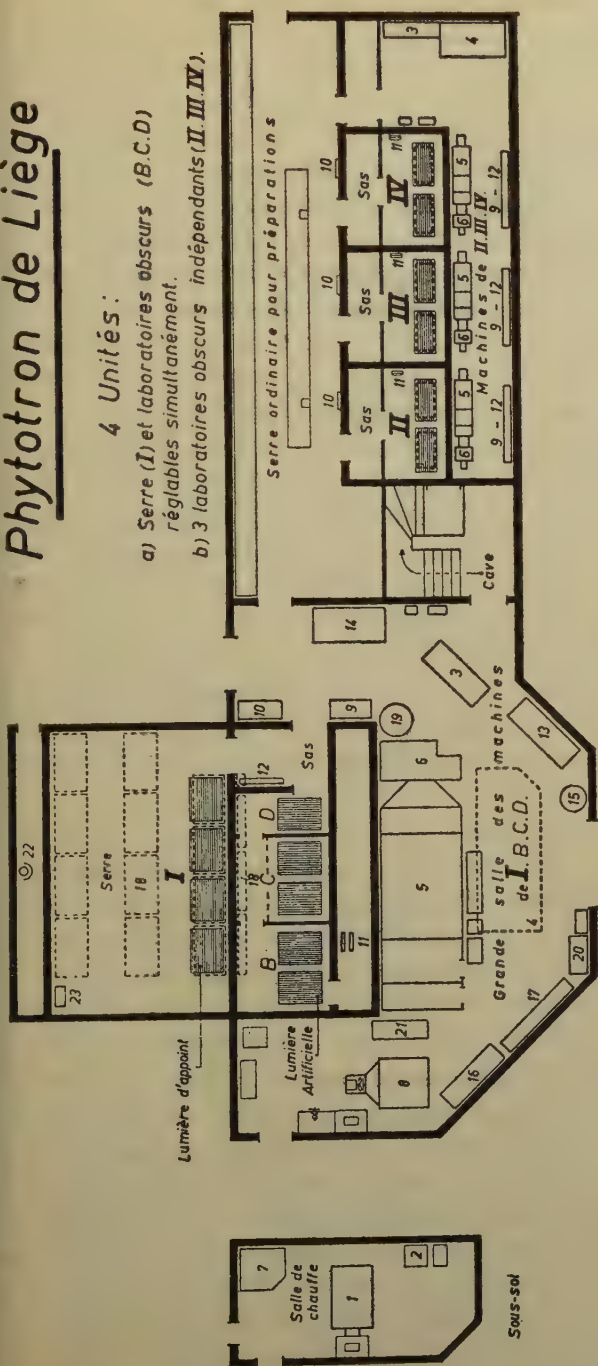


Fig. 1. — Plan schématique.

1. Chaudière.
2. Réserve d'eau chaude.
3. Compresseur.
4. Réserve d'eau froide à 4° C.
5. Conditionneur.
6. Ventilateur.
7. Réserve d'alimentation pour le rideau d'eau sur les vitrages.
8. Séchoir.
9. Tableaux des contacteurs.
10. Tableaux enregistreurs.
11. Thermostats et Hygrostats.
12. Tableaux de commande des panneaux d'éclairage.
13. Glacière à 3 chambres.
14. Gernoir à températures diverses.
15. Autoclave.
16. Distributeur d'eau chaude.
17. Réserve de matériel.
18. Bouches de ventilation dans serre et laboratoires obscurs.
19. Agitateur pour solutions nutritives.
20. Distillateur d'eau pour solutions nutritives.
21. Décalcariateurs de l'eau d'alimentation du conditionneur.
22. Héliographe.
23. Appareils enregistreurs de contrôle (thermographe, hydrographe, barographe).

ensuite vers le conditionneur en passant par une chambre de reprise d'air. En outre, une cheminée munie de 3 filtres à huile permet l'admission d'une quantité d'air frais extérieur pouvant atteindre 3 000 m³/heure (± 15 % du total). Dans ce groupe de locaux règne une pression légèrement supérieure à la pression atmosphérique, ce qui en détermine l'isolement de manière satisfaisante.

Les appareils de commande : un thermostat et un hygrostat sont situés à la sortie de l'air après le passage dans la serre et les chambres noires : si la température baisse dans les locaux, le thermostat commande l'ouverture d'un by-pass et l'admission de vapeur dans le réchauffeur. Si, par contre, la température est trop élevée, l'air est dirigé à travers le tunnel du conditionneur. La température de l'eau qui gicle dans celui-ci détermine la température de l'air.

Deux vannes motorisées à 3 voies commandent quantitativement l'arrivée d'une eau refroidie à 4° C par le compresseur et d'une eau réchauffée par la vapeur de la chaudière; le fonctionnement de ces 3 vannes raccordées en cascade peut faire varier la température de l'eau introduite dans le conditionneur entre 4° et 45° C. Dans ces conditions, l'air est saturé à la température qu'il a acquise. Un dispositif spécial peut alors intervenir si l'air doit être desséché.

Le brassage de l'air est très important : le ventilateur débite 18 000 m³/h pour un volume total de 180 m³, c'est-à-dire qu'il se renouvelle 100 fois toutes les heures ou un peu plus de 3 fois par minute.

Pourquoi cette énorme quantité d'air ?

- D'une part, la serre étant orientée au sud subit immédiatement le moindre réchauffement solaire et les modifications brusques de température dues à la grande variabilité de notre climat.
- D'autre part, l'écart de température entre l'air d'admission et l'air dans les locaux doit être réduit au minimum ($\pm 1^{\circ}$ C comme nous l'avons dit) ce qui nécessite un débit d'air considérable.

Une des astuces du constructeur a été de doter la serre d'un double vitrage et de créer ainsi un « espace-tampon ». Son avantage est multiple. En hiver, par de très basses températures extérieures, la condensation sur un simple vitrage empêcherait le maintien d'une température et d'un pourcentage d'humidité élevés. Dans le Phytotron de Liège, l'espace-tampon peut-être chauffé et ventilé séparément par de l'air sec à une température voisine de celle de la serre. Ainsi, toute condensation est éliminée. Mais, en été, l'air contenu dans cet espace-tampon s'échauffe rapidement sous l'effet de l'insolation; pour pallier cet inconvénient, l'air, après son passage dans la

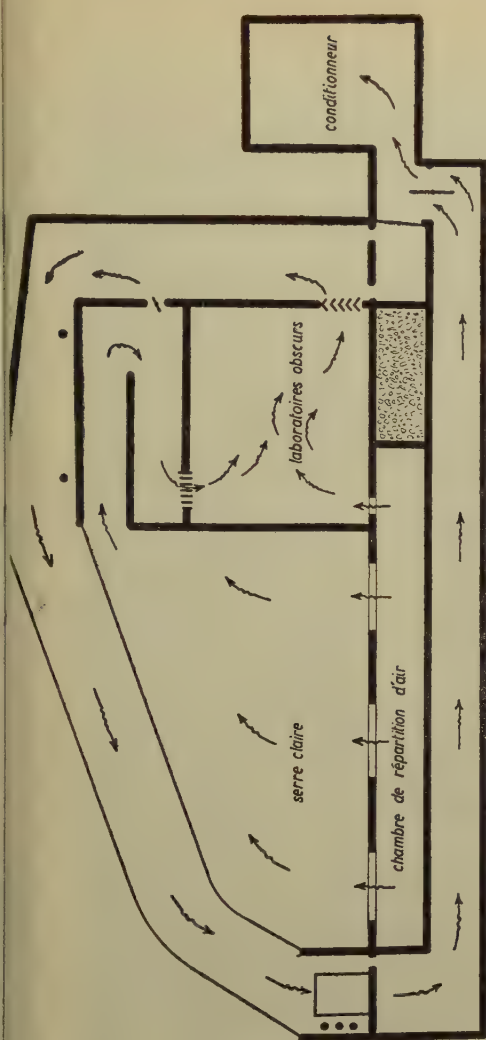


Fig. 2.
Schéma du circuit d'été
dans le Phytotron de Liège.

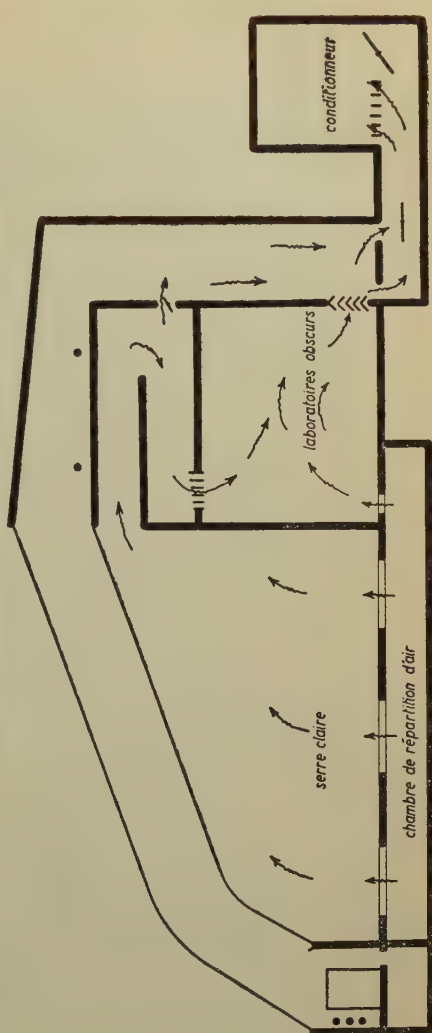


Fig. 3.
Schéma du circuit d'hiver

serre et les chambres obscures, est dirigé non plus directement vers la chambre de reprise, mais suit un parcours qui lui permet de balayer l'excès de chaleur qui s'accumule entre les deux vitrages (fig. 2 et 3).

De plus, un système de rideau d'eau de 2 à 3 mm d'épaisseur peut être déclenché pendant les journées ensoleillées sur l'un ou l'autre vitrage et constitue, pour les plantes de la serre, un écran calorique et une protection contre le rayonnement solaire, tout en augmentant légèrement la luminosité. Cette eau est récupérée.

Le personnel du Phytotron est constamment renseigné sur son fonctionnement par des indicateurs incorporés à deux armoires extérieures qui contiennent les cerveaux électroniques de toute cette ingénieuse machinerie. Les températures enregistrées par deux thermomètres, un sec et un humide, fournissent les documents concernant l'évolution de la température et de l'humidité. En outre, des lampes témoins et des aiguilles indicatrices permettent de vérifier si les appareils motorisés répondent correctement aux ordres qui leur sont communiqués par le thermostat et l'hygrostat.

Les trois autres unités du Phytotron, en fonction depuis 1954, consistent en trois laboratoires obscurs de 12 m³ chacun, totalement indépendants l'un de l'autre et climatisés par trois conditionneurs séparés.

Le principe de fonctionnement de ces laboratoires est à peu près semblable à celui du prototype, à une différence importante près. Si la source de froid est toujours une réserve d'eau maintenue à 4° C par un compresseur, la chaleur est fournie non plus par un réchauffeur à vapeur, mais par des résistances électriques incorporées dans le circuit d'air; donc plus de chaudière.

Un perfectionnement technique propre à ces nouveaux laboratoires mérite d'être signalé. Par période de 24 heures, la température peut être changée d'heure en heure ou maintenue constante pendant un nombre d'heures déterminé, grâce à un jeu de plots, judicieusement fixés sur un tableau commandé par une horloge électrique; ainsi il est possible de créer des nuits chaudes ou froides et des jours froids ou chauds (fig. 4).

C'est pourquoi on a appelé ces 3 unités « Laboratoires indépendants à climats variables prédéterminés »; tandis que l'unité comportant la serre et les trois chambres obscures est à « climats constants prédéterminés ».

Lors du IX^e Congrès international de Botanique, qui a eu lieu à Montréal (Canada) en août 1959, il a été officiellement décidé que le Professeur R. Bouillenne, Directeur du Phytotron de Liège, serait le conseiller pour tous ceux qui en Europe sont intéressés à la construction de Phytotrons.

* * *

L'éclairement des chambres et laboratoires obscurs et la lumière d'appoint de la serre ont posé aux travailleurs du Centre de Recherches des Hormones Végétales un problème capital : trouver un type de lumière artificielle qui convienne à un grand nombre de plantes.

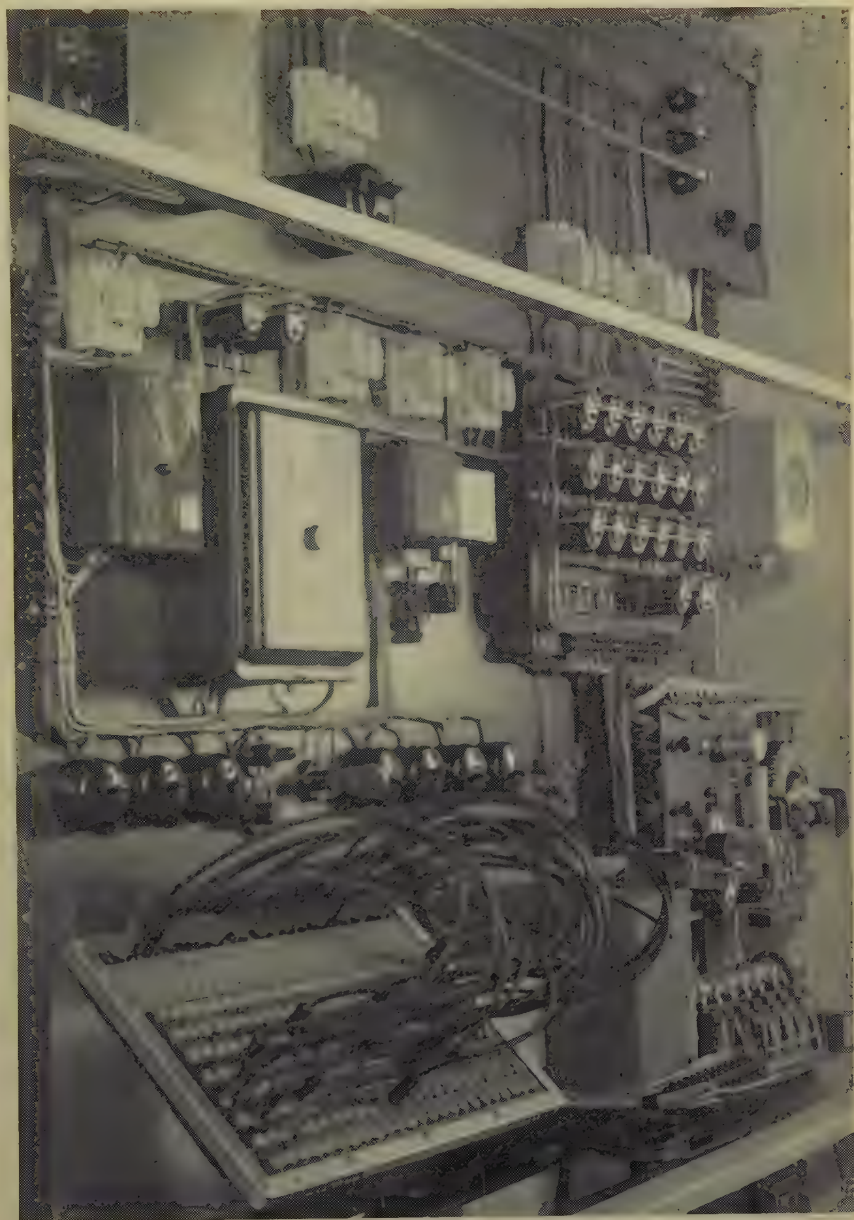


Fig. 4. — Ensemble des appareils de réglage d'un laboratoire à climats variables prédéterminés.

Photo R. Sauteur



Fig. 5. — Tomates Joffre. Semis du 9-6-1952.
 Témoin Tubes Phytor
 16 h par jour de lumière naturelle 16 h par jour dans les chambres noires
 dans la serre du Phytotron du Phytotron

Photo R. Sauveur du 21-7-1952



Fig. 7. — *Begonia semperflorens* cultivés sous lumière d'appoint par tubes Phytor pour prolonger la lumière du jour des mois de novembre-décembre. Serre du Phytotron.

Photo R. Sauveur.

Certes l'éclairage artificiel des plantes est un problème qui intéresse depuis longtemps aussi bien l'horticulteur que ceux qui se préoccupent de recherches de sciences fondamentales.

Les plantes sont les seuls êtres vivants capables de réaliser une synthèse biologique appelée « Photosynthèse ».

Grâce à la chlorophylle, pigment vert, contenu dans leurs parties aériennes, les plantes utilisent le CO_2 de l'air, l'eau, les sels minéraux et l'énergie lumineuse du soleil pour fabriquer des molécules de sucre.

Or on admet que toutes les radiations du spectre solaire n'interviennent pas dans la photosynthèse; seuls les rayons visibles sont utilisés et parmi ceux-ci les rayons rouge-orange (vers 6 500 Å) ont une efficacité photosynthétique maximum, tandis que d'autres sont également nécessaires.

Le Centre de Recherches des Hormones Végétales a réussi, avec la collaboration des A.C.E.C. de Charleroi, à créer un tube fluorescent (de basse pression), appelé « Phytor C.R.H.Lg », dont le spectre a été constitué expérimentalement grâce au Phytotron.

Des plantes ont d'abord été exposées (toutes autres conditions étant constantes) à la lumière de tubes émettant dans diverses régions du spectre : Bleue, Verte, Jaune, Rouge, afin de déterminer leurs réactions à ces longueurs d'onde. Ces tubes ont ensuite été assemblés en proportions diverses afin de satisfaire aux exigences photochimiques et au déroulement normal des phénomènes de croissance et de développement. On a ainsi pu sélectionner une combinaison spectrale qui produit des individus aussi beaux et même plus beaux que ceux élevés en serre à la lumière du mois de juin, dans les mêmes conditions climatiques et après le même temps (fig. 5).

Le tube « Phytor C.R.H.Lg » a été obtenu en 1952, en combinant en un seul tube de lumière fluorescente et en proportions équilibrées l'ensemble des rayonnements reconnus utiles. Ce tube nouveau présente une courbe de répartition spectrale de la lumière à peu près semblable à celle établie par Hoover en 1936, pour le rendement photosynthétique optimum, d'après les courbes d'absorption de lumière par des solutions de chlorophylle ou par des feuilles vertes et vivantes (fig. 6).

Depuis la publication, en 1953-54, des résultats satisfaisants obtenus par nous avec le tube « Phytor C.R.H.Lg », la fabrication et la vente de ce tube de lumière « horticole » ont été confiées aux A.C.E.C., Ateliers de Constructions Electriques de Charleroi.

Un montage avec réflecteur et aérateur nommé « Phytorel » groupe quatre tubes Phytor qui, à 30 cm des plantes, émettent une intensité d'environ 5 000 Lux ($\pm 2\,700$ erg/sec/cm²) et consomment 200 watts par m² de surface éclairée. On peut augmenter ou diminuer l'intensité lumineuse en faisant varier la distance aux lampes.

Le Phytorel est très maniable et peut être installé à peu de frais soit en serre, soit dans n'importe quel local mal éclairé, par exemple, une cave.

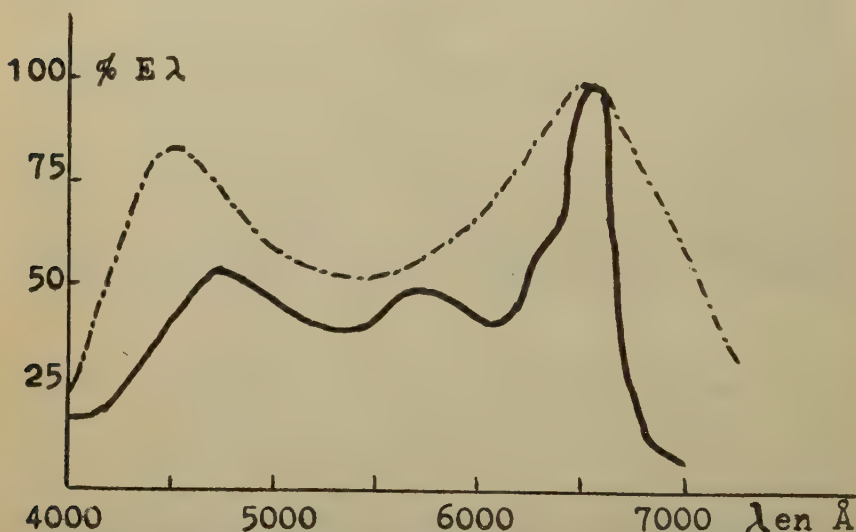


Fig. 6. — Diagramme de la distribution, dans le spectre visible, de la lumière des tubes Phytor. On voit que cette courbe suit assez fidèlement la courbe de l'efficacité photosynthétique de Hoover.

L'axe des abscisses est gradué en millimicrons, tandis que l'axe des ordonnées représente des pourcents d'énergie relative. Le maximum d'émission des lampes (fond continu du spectre) a été pris arbitrairement égal à 100 %.

En trait plein : L.F. Phytor C.R.H.Lg (1953).

En trait interrompu : Efficacité photosynthétique (Hoover 1936).

Le Phytorel, dont le rendement est remarquable, remplace avantageusement les ampoules à incandescence, les lampes à vapeur de Hg à haute pression et les tubes fluorescents ordinaires à basse pression.

Les tubes fluorescents ordinaires (day-light, Westinghouse, L-F 40-3500) contiennent trop peu de raies dans le rouge et émettent le maximum d'intensité dans le vert, ce qui satisfait aux exigences de la visibilité humaine mais non à la croissance et au développement des végétaux.

Le tube « Phytor C.R.H.Lg » qu'il soit monté en Phytorel à 4 tubes ou en panneaux à nombreux tubes (fig. 7), permet d'obtenir rapidement de jeunes plantes parfaitement saines pour le repiquage,

soit de primeurs — tomates, choux, salades, épinards, radis — soit de plantes ornementales — bégonias, cyclamens, cactées, azalées, géraniums. On peut, par exemple, avoir en fleurs pendant toute l'année des *Salvia splendens* (Feu de la St-Jean). Ils commencent à fleurir abondamment 40 jours après le semis s'ils sont éclairés 16 heures par jour avec la lumière des tubes Phytor.

* * *

Les études de sciences fondamentales entreprises depuis dix ans au Centre de Recherches des Hormones Végétales, ont trait aux divers aspects de la Botanique depuis la physiologie jusqu'à la biochimie, en passant par l'écologie expérimentale.

Nous citerons, à titre d'exemples, deux sujets qui nous préoccupent actuellement :

La Rhizogenèse : La détermination des facteurs qui contrôlent l'apparition des primordium de racines (c'est-à-dire le problème du bouturage) nous a permis de préciser que ceux-ci sont sous la dépendance du fonctionnement d'un enzyme oxydasique (phénolase) localisé dans *certaines cellules* et agissant sur des substrats biochimiques porteurs de radicaux phénoliques.

Cette réaction serait le point de départ d'une chaîne faisant intervenir les groupes sulfhydryles et aboutissant à des synthèses de protéides spécifiques de l'organogenèse (Bouillenne, 1952) (fig. 8).

La Floraison : De nombreux travailleurs ont pu approfondir les modalités et les exigences de la floraison des plantes.

Le passage de l'état végétatif à l'état de floraison se fait dans les méristèmes. Ceux-ci dans leur croissance végétative engendrent des portions de tiges, des feuilles, des bourgeons foliaires. Plus tard, sous l'action d'un stimulus venant des feuilles, la floraison est induite. Le méristème se transforme biochimiquement et morphologiquement ; il engendre des bractées et des fleurs. Il y a aussi des modifications dans les échanges gazeux respiratoires, dans le contenu des feuilles en chlorophylles, en vitamines E et K, en stérols, en hydrocarbures spéciaux.

On ne sait pas encore dans quelle mesure ces différents corps, issus du métabolisme chlorophyllien, sont transmis au méristème et font partie du stimulus floral.

Les études du rôle des variations de température dans la mise à fleurs de certaines plantes ont révélé qu'il faut un changement

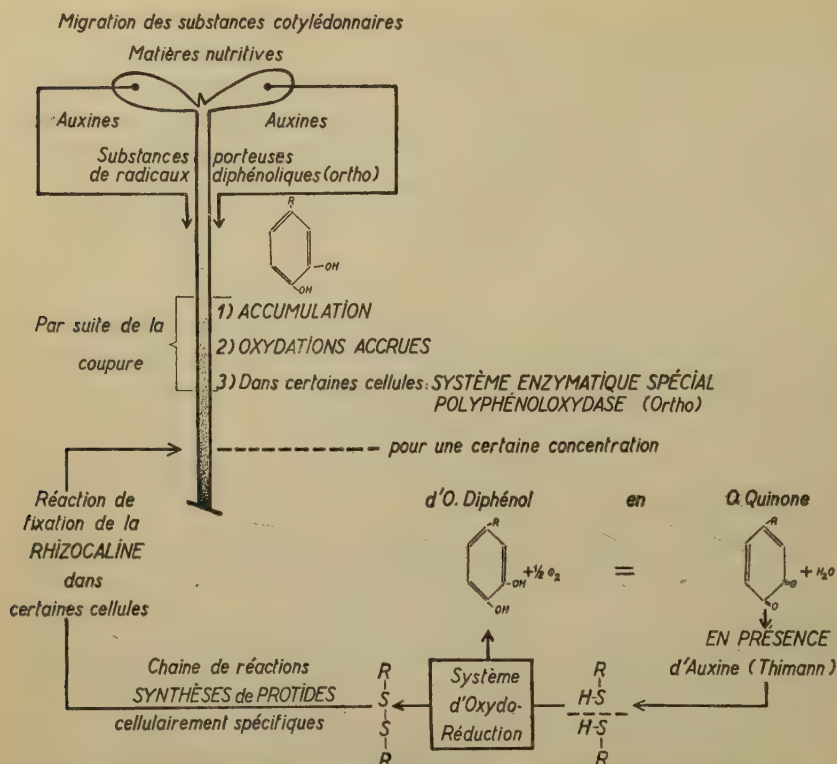


Fig. 8. — Schéma représentant le jeu des facteurs biochimiques impliqués dans la Rhizogenèse.

de température — de nuit ou de jour — à une époque déterminée pour favoriser la floraison et intensifier la fructification. Cette donnée, d'une importance pratique considérable, a été mise en évidence sur diverses espèces (Tomates, Guar (*Cyamopsis tetragonoloba*), etc.).

Les installations du Phytotron permettent de déterminer avec une rigueur totale les exigences des plantes non seulement dans la qualité et la quantité de lumière, mais aussi dans la durée de l'éclairage quotidien : pour fleurir, certaines exigent des jours longs et des nuits courtes, d'autres exigent des jours courts et des nuits longues, d'autres sont indifférentes, d'autres, enfin, sous l'influence de certaines modalités photopériodiques, présentent des variations de sexe.

Par exemple, le maïs cultivé en jours longs porte des épis femelles disposés latéralement sur la tige et un épi terminal de fleurs mâles. Cultivé en jours de huit heures, le maïs présente un épi terminal entièrement femelle (expérience présentée à l'Exposition internationale

de Bruxelles, Palais de la Science, 1958). De même des pieds *mâles* de chanvre poussant en jours longs deviennent hermaphrodites si on les transfère en jours courts; ceux-ci ont féminisé des plantes mâles.

* * *

Le Phytotron constitue donc un puissant moyen d'études théoriques.

En outre, il permet la mise au point précise des conditions favorables à la croissance, à la floraison, à la fructification des espèces utilisées en floriculture ou en culture forcée.

Ces industries si importantes dans l'économie de notre pays peuvent tirer grand profit des renseignements ainsi obtenus, et, en spécialisant certaines gammes de conditionnement, utiliser le principe même du Phytotron à la réalisation d'appareillages plus simples et économiquement rentables.

De telles installations de conditionnement limité ont déjà été construites, certaines même de très grandes dimensions, en Belgique et en France; il est souhaitable de les multiplier.

On peut aussi prévoir que l'agriculture elle-même bénéficiera des résultats de recherches sur les exigences des plantes de grande culture, et permettra de les répartir dans les milieux écologiques les plus appropriés. (*)

(*) Ces recherches sont subsidiées par l'I.R.S.I.A.



PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE

Quelques aspects actuels de la physiologie de la mise à fleurs,

par R. BOUILLENNE,
Professeur à l'Université de Liège.

Résumé. — Le problème de la mise à fleurs chez les plantes supérieures nous préoccupe depuis 1931. Il a pu être abordé plus récemment dans des conditions expérimentales connues et précises, grâce à l'utilisation du Phytotron de Liège construit en 1950 et subsidié par l'I. R. S. I. A. Nous relatons ici succinctement les principaux résultats acquis, par nous et nos collaborateurs, dans la recherche des facteurs déterminant l'induction florale et nous les insérons dans une brève revue de l'évolution de cette question.

Les informations bibliographiques seront trouvées, d'une part, dans les travaux originaux cités et, d'autre part, dans les mises au point publiées par *Annual Review of Plant Physiology*.

Le problème de la floraison évoque un des chapitres les plus actuels de la Physiologie végétale et l'un des plus intéressants pour l'Horticulture moderne. Celui qui connaît les conditions exigées par une espèce pour grandir, pour passer de l'état végétatif à l'état de maturation, pour faire apparaître des fleurs et porter des fruits peut, seul, aujourd'hui, espérer améliorer les rendements acquis par la sélection.

Évidemment, les rendements dépendent des éléments du milieu extérieur, de la fertilité du sol, de l'habileté technique mais ils dépendent pour chaque espèce, au-delà de la génétique, de mécanismes physiologiques internes que les hormones contrôlent en partie.

L'existence d'hormones chez les végétaux a été postulée par

Sachs en 1882. Selon lui, des substances chimiques spéciales existent qui peuvent circuler et déterminer la formation de certains organes comme par exemple les fleurs.

L'expérience de Sachs était celle-ci : (*) « The growth of new shoots from excised Begonia leaves required six months, in leaves coming from vegetative mother plants but only two months in leaves from plants that had been induced previously to flower and the new shoots then were flowering rapidly » et Sachs concluait que la floraison et d'une manière générale la formation des organes nouveaux était due à des substances spéciales autres que nutritives. Sachs ajoutait : ces substances existent même si les méthodes grossières de la chimie de 1882 ne peuvent les déceler (Fig. 1).

Le problème posé est donc : existe-t-il et quels sont les facteurs qui provoquent la transformation d'un bourgeon végétatif en un bourgeon d'un autre type portant une ou des fleurs.

Lorsqu'on suit la croissance d'un bourgeon normalement constitué, on constate qu'il fait apparaître progressivement des feuilles régulièrement espacées et de nouvelles portions de tiges (nœuds et entrenœuds), à la suite des activités cellulaires du méristème qui se trouve au sommet.

Les caractéristiques histologiques de ce méristème sont bien étudiées. Ce méristème est d'abord végétatif.

A un moment donné, ce même méristème subit des modifications dans sa structure, dans le jeu des différenciations cellulaires qu'il présente : l'axe ne porte plus de vraies feuilles mais des bractées ; il fait apparaître des primordia floraux. Ces changements histologiques ont été précisés par l'examen de coupes microscopiques faites à travers les méristèmes à différents stades. Ils correspondent à la mise en activité du « Corpus » méristématique dans lequel pendant toute la durée de la période végétative les divisions restent rares. Une sorte de nouveau méristème se dégage et différencie la hampe ou le pédoncule et les différentes parties des fleurs (Fig. 2).

Il est donc important de découvrir et d'identifier les facteurs internes et externes qui provoquent la transformation d'un

(*) D'après une traduction anglaise du texte de Sachs.



FIG. 1. — Expérience classique de SACHS (1882) reproduite à Liège et démontrant qu'une feuille de *Begonia Rex*, détachée d'une plante-mère en fleurs et mise à bouturer sur la cendrée, produit une nouvelle plantule qui fleurit très rapidement.

Photo. R. SAUVEUR.



FIG. 2. — Deux individus de *Salvia splendens* (var. feu de la Saint Jean) ayant le même âge, et cultivés en phytotron dans les mêmes conditions climatiques, le même substrat, la même intensité de la même lumière artificielle mais avec un éclairage quotidien (Phytor C.R.H.Lg.) ; à dr. de 8 h., à g. de 16 h. On voit que le méristème terminal a subi l'action de facteurs qui, d'un côté (à g.) l'ont mis à fleurs et qui, de l'autre (à dr.) l'ont maintenu végétatif.



FIG. 3. — *Coleus Blumei* cultivés en phytotron dans des conditions identiques :
à gauche : traité par une vaporisation à la gibbérelline.
à droite : témoin.

Photo R. SAUVEUR.

bourgeon végétatif en un bourgeon floral ou inflorescentiel. Cette transformation se fait dans le méristème. Si elle n'a pas lieu, le bourgeon reste végétatif, car il existe, dans la nature, des plantes qui ne fleurissent pas.

* * *

Nous réserverons le terme de maturation pour désigner l'état d'aptitude florale acquise par le méristème. Comme les fleurs ne seront complètement constituées que plus tard, nous appellerons floraison les étapes de l'achèvement de la constitution des fleurs et de l'épanouissement de celles-ci.

Bien entendu, nous savons que, dans les plantes supérieures, ces organes floraux sont des strobiles porteurs de sporophylles (microsporophylles ou étamines et mégasporophylles ou carpelles) produisant des spores et que la phase authentiquement sexuée se place plus tard, lors de la germination de ces spores quand celles-ci constituent les gamétophytes porteurs de gamètes et que s'opère la fécondation (P. Martens, 1958).

Comme on sait, ces gamétophytes mâles ou femelles sont extrêmement réduits dans leur taille et leur organisation chez les plantes supérieures et certaines de leurs caractéristiques sexuelles sont reportées sur les sporophytes ainsi que sur les spores elles-mêmes (microspores, mégaspores).

C'est pourquoi au nom de l'évolution sporodynamique manifestée par les plantes supérieures et malgré des considérations cytologiques légitimes, nous utilisons le terme de maturation sexuelle pour désigner l'étape biochimique qui, dans le méristème, réalise l'induction florale.

* * *

Depuis que les hommes cultivent les plantes, ils savent que les facteurs externes : lumière, chaleur, eau, vent, composition du sol contrôlent la croissance et la floraison.

La révélation du rôle de certains facteurs externes sur le déclenchement de la floraison est due, vers 1900, aux travaux de Klebs. Selon cet auteur l'eau, la lumière, la teneur en azote du sol interviennent ; mais l'expérimentation est plutôt quali-

tative. Pour Klebs il faut beaucoup de lumière, peu d'eau et peu d'engrais azoté pour obtenir un rapport C/N supérieur à l'unité, favorable à la production des fleurs.

Une indication très originale et beaucoup plus précise a été publiée en 1911-1914 par Tournois à Paris, qui a montré que la précocité de la floraison du Chanvre, constatée dans les semis de février, est due à la brièveté des jours de cette période de l'année. L'auteur met l'accent sur l'existence d'une réaction du Chanvre à la longueur du jour. C'est là une découverte fondamentale, dont il convient d'honorer la mémoire de Tournois, décédé prématurément à la guerre de 1914-18 : Tournois en vérité avait découvert le Photopériodisme, ses conclusions sur la floraison du chanvre ont été confirmées entièrement, dans les conditions précises du Phytotron de Liège, par Petit (1952) et Cheuvart (1954).

Plus tard, en 1920-1925, aux États-Unis, Garner et Allard retrouvent le phénomène et le généralisent à de nombreuses espèces parmi lesquelles il en est qui fleurissent en jours courts, comme le Chanvre, mais d'autres en jours longs, comme le Fraisier des 4 Saisons, tandis que d'autres restent indifférentes. Un chapitre nouveau de la Physiologie végétale est ouvert cette fois sous le terme de Photopériodisme.

La dépendance de la floraison par rapport à la durée d'éclairement est hautement spécifique. Une autre condition intervient également à ce sujet, c'est l'exigence d'une température déterminée à un moment donné de la germination, basse pour certaines plantes, comme le froment, haute pour d'autres comme le cotonnier, le maïs. Nous ne nous occuperons pas ici de cette question de température appelée vernalisation, ni de celle que Went (1948) a défini comme « Night Temperature ». Nous examinerons l'action de la durée de l'éclairement sur la floraison, condition bien différente de celles qui sont favorables à la croissance et aux autres fonctions végétatives des plantes.

Nous concentrerons notre attention sur les phénomènes qui se passent, soit dans les feuilles, soit au niveau des tissus des bourgeons et qui produisent les modifications orientant la différenciation des tissus végétatifs vers les structures d'où les fleurs sont formées (Fig. 2).

Peu à peu, on découvre que l'activité photopériodique des feuilles détermine la circulation d'un complexe substanciel qui peut passer à travers les tissus d'une greffe bien soudée ; Hamner et Bonner, sur *Xanthium pennsylvanicum*, en 1938, l'ont montré. Ce complexe mobile et inconnu est arrêté par une goutte de liquide aqueux. Son efficacité est telle qu'une plante de jours courts réussit à faire des fleurs en jours longs, pour peu qu'une de ses branches ou même une seule feuille soit laissée en jours courts. Melchers, Lang et d'autres sont même arrivés à montrer, sur le Tabac, que si l'on greffe un rameau d'une espèce de jours courts sur une espèce de jours longs et si la culture a lieu en jours courts, la floraison se produit tant sur le greffon que sur le porte-greffe. De plus le stimulus ainsi transmis au méristème n'est pas spécifique ; il peut même être échangeables entre plantes de genres différents. Ainsi l'Orobanche (*O. minor*), qui est parasite ne fleurit que si la plante-hôte est elle-même en fleurs.

L'ensemble de ces observations et leur reproductibilité conduisent les chercheurs (Cajlahjan, en 1933) à postuler l'existence d'une hormone florigène comme l'avait fait Sachs, 50 ans auparavant dans l'expérience restée célèbre sur *Begonia Rex*.

Dès lors, l'on s'oriente vers l'extraction et la purification de cette hormone supposée, vers la recherche des conditions dans lesquelles les feuilles en font la synthèse en photopériode favorable et comment elle est transmise au méristème.

Malheureusement, les problèmes biologiques ne sont pas aussi simples ; d'une part, jusqu'à tout récemment, on n'avait pas pu extraire un complexe substanciel qui fût actif sur la floraison et, d'autre part, certains résultats contradictoires ont fait dévier l'opinion. Aussi, l'hypothèse de l'action directe d'une hormone florigène fut-elle combattue sévèrement et certains prétendent qu'au fond, tout se passe comme s'il existait un antiflorigène fondamental, maintenant l'état végétatif, inhibant la floraison, et permettant celle-ci uniquement lorsqu'il est neutralisé (c'est la théorie antiflorigène de Lona que rejoint Wellensieck en 1954).

Nous hésitons à suivre les interprétations qui postulent, à l'avance, des actions inhibitrices. Nous préférons personnellement, commencer par examiner l'éventualité d'actions positives.

Quelques auteurs ont étudié le chimisme des feuilles placées

en diverses photopériodes. Par exemple, Murneek s'est attaché à l'évolution des sucres, Galston et d'autres à celle des auxines et nous parlerons quelques instants de ce dernier point.

De tous les résultats parfois contradictoires qui ont été publiés sur la floraison, on peut tirer ceci au sujet du rôle des auxines.

Appliquées sur les *plantes de longs jours*, les auxines peuvent induire la floraison alors que les témoins restent végétatifs ; mais ce résultat n'est obtenu que lorsque l'application se fait dans la période de l'induction florale, que les plantes sont pour ainsi dire au bord de la floraison et que, dans certains cas, les quantités d'AIA (acide β indol-acétique) utilisées sont assez fortes et guère biologiques (50 mmg ‰).

Une expérience de Lang est à ce sujet très démonstrative : *Hyoscyamus niger*, plante de jours longs, est cultivée en photopériodes d'intensité et de durée telles que « un rien de lumière supplémentaire induirait la floraison » (Lang, 1954). Il remplace ce rien de lumière supplémentaire par une application d'AIA en doses massives et il obtient la floraison.

On peut obtenir le même résultat d'ailleurs comme nous l'avons fait à Liège par une application de gibbérelline, c'est l'action déjà bien connue de la gibbérelline sur la précocité de floraison. C'est vrai, uniquement dans le cas où les plantes ont subi déjà l'induction florale ; sinon auxine ou gibbérelline sont sans action (Fig. 3 et 4) ; elles n'ont d'autre rôle que de hâter un phénomène déjà déclenché (M. Bouillenne-Walrand, 1958-59).

D'autre part, les auxines appliquées aux *plantes de jours courts* pendant la période d'induction, produisent un effet inhibiteur ; mais celui-ci est annulé par l'action d'une antiauxine comme l'acide triiodobenzoïque. De plus, lorsque les auxines sont données après l'induction de maturation, elles ne sont plus inhibitrices. Ces résultats sont difficiles à interpréter. Cependant, il faut remarquer que les applications d'AIA qui les produisent se font généralement en assez fortes concentrations et que dès lors à notre avis, on ne doit pas s'attendre à ce que les réponses ainsi obtenues soient transposables directement dans les organismes à l'état naturel.

Des expériences faites dans notre laboratoire (M. Gilson, 1957), non pas au moyen d'application d'auxines mais bien en dosant



FIG. 4. — Comparaison entre plantes, à gauche (I), témoin et à droite (II) traitées à la gibbérelline de *Perilla* et *Hyoscyamus niger* qui n'ont encore subi aucune induction florale: Elles réagissent par une croissance remarquable mais elles ne forment pas de fleurs.

Photo R. SAUVEUR.

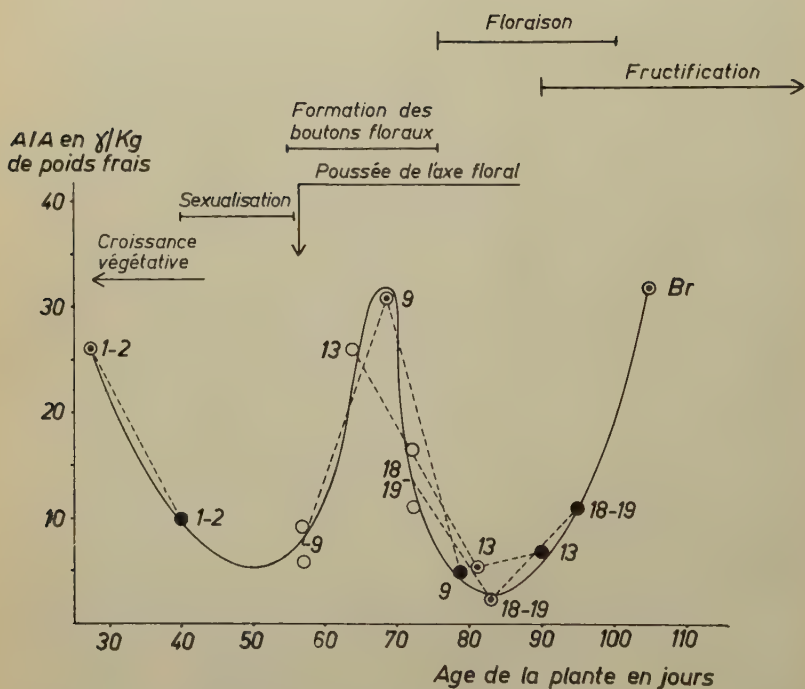


FIG. 5. — *Hyoscyamus niger* cultivé en 16 heures . AIA total dans les feuilles et bractées (Br) n° 1 et 2, 9 et 13, 18 et 19, quand elles sont :

- = jeunes
- = adultes
- = vieilles

l'AIA libre ou lié ou total existant dans les feuilles aux différentes étapes de la vie d'*Hyoscyamus niger*, depuis le semis jusqu'à la maturation et la floraison, montrent clairement que l'évolution des concentrations de l'AIA est indépendante de l'induction florale puisque cette évolution est identique dans les plantes qui subissent l'induction en photopériode adéquate et dans celles qui restent végétatives en photopériode non favorable (Fig. 5 et 6).

Cependant, l'AIA manifeste une brusque augmentation de sa teneur totale ou libre, en coïncidence avec l'élongation de l'axe floral. Ce phénomène, aperçu par Murneek en 1936-1940, a été bien établi par nous en utilisant une technique de dosage précise, mise au point à Liège (Bronchart, 1957). Il est classique que certains niveaux d'auxine provoquent la croissance de bourgeons — si ces bourgeons sont justement porteurs de primordia floraux, il y a accélération dans la poussée de l'axe et l'épanouissement des fleurs (Fig. 6).

Il nous est agréable de constater que cette manière de voir est entièrement partagée par Léopold, en 1958 :

« At the present time, there is no clear evidence that auxine constitue a part of the flowering stimulus itself. There is some evidence that growth substances may inhibit the translocation of the hypothetical flowering stimulus and some less direct evidence that they may contribute to the destruction of the flowering stimulus. In addition it is reasonable to assume that inhibition of flowering by auxins may be a consequence of non specific-inhibition or toxicities. Some promotion of flowering by auxins may result from the influence of auxin upon vegetative growth ».

Il est très possible que le métabolisme particulier que nous appellerons « métabolisme de floraison » soit caractérisé par un taux très bas d'AIA libre comme nous l'avons montré mais cette *concentration n'est pas déterminante* puisqu'elle existe aussi chez des plantes qui ne sexualisent jamais. Des expériences sur plantes âgées de 92 jours viennent confirmer cette hypothèse (M. Bouillenne-Walrand, M. Pacqué et R. Bouillenne, 1960).

A présent, examinons quelles sont les actions de la lumière et de sa durée quotidienne sur le contenu des feuilles, en dehors des auxines.

Les travaux de Parker, Borthwick et Hendrickx nous ont engagé considérer les variations du contenu en pigments chlorophylliens en rapport avec le photopériodisme. Ces auteurs indiquent en effet qu'un ou des pigments, proches parents de la chlorophylle, prennent part à l'édification de complexes sensibles à l'alternance des jours et des nuits.

Déjà en 1942, Bode avait montré que, si on transfère *Kalanchoë*, une plante de jour court, d'une longue photopériode où il ne fleurit pas, dans une courte photopériode où il fleurit, il y a augmentation du taux de chlorophylle dans les feuilles.

De même, Strott (1938) et Taranez (1950) ont montré que le contenu en chlorophylles des feuilles est facilement altéré ou transformé par le passage des plantes de jours longs en jours courts et réciproquement.

Cette vue a été assez difficilement admise parce qu'elle allait à l'encontre de la théorie de Willstaetter et Stoll qui considéraient que le contenu en chlorophylle des feuilles était *constant* pour chaque espèce ou variété.

Cependant, aujourd'hui grâce aux techniques plus précises non seulement dans le dosage des chlorophylles mais aussi dans la culture des plantes expérimentales, dans un Phytotron par exemple, la démonstration est faite de manière irréfutable qu'il existe une variation du contenu chlorophyllien des feuilles dans les circonstances que voici :

1) Il y a toujours une forte concentration de chlorophylle dans les feuilles de plantes cultivées en jours courts pour les plantes de jours courts, de même en jours longs pour les plantes de longs jours et cela pendant la majeure partie de la vie du végétal.

2) Au moment de la mise à fleurs, le taux de chlorophylle totale s'abaisse dans les feuilles, c'est-à-dire que l'hydrolyse des pigments est plus forte que la synthèse de ceux-ci.

3) Plusieurs auteurs et notamment Schöpfer en Suisse ont pensé que l'hydrolyse de la chlorophylle peut déterminer par l'intermédiaire de la chaîne phytol libérée, la formation des vitamines E et K. Or, le Fraisier des Quatre-Saisons en photopériode favorable, présente ainsi que l'a montré un de nos collaborateurs

AIA en $\mu\text{g/Kg}$
de poids frais

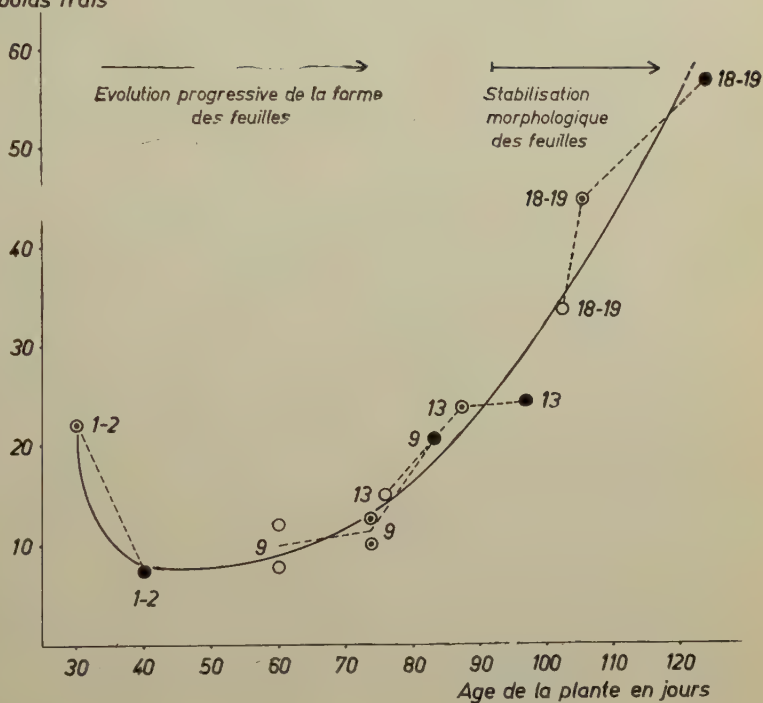


FIG. 6. — *Hyoscyamus niger* cultivés en 8 heures de jours.

AIA total dans les feuilles 1 et 2, 9 et 13, 18 et 19, quand elles sont :

- = jeunes
- ◉ = adultes
- = vieilles



FIG. 7. — *Salvia splendens* var. feu de la St. Jean — ayant été transféré de longs jours — en jours courts avant que les phénomènes d'induction florale aient été complétés en jours longs. La hampe florale qui avait commencé à se former grandit mais la plupart des fleurs avortent.

Photo R. SAUVEUR.

(C. Sironval, 1957) une diminution du contenu en chlorophylle des feuilles en coïncidence avec une apparition de vitamines E et K.

4) De plus, il a constaté que le rapport $\frac{\text{chlorophylle } a}{\text{chlorophylle } b}$ s'abaisse au moment de la préfloraison (l'abaissement de ce rapport est dû à la diminution de la quantité de chlorophylle a) et que des gouttelettes d'une huile insaponifiable se forment dans les cellules palissadiques des parenchymes foliaires.

Ainsi donc, au moment de l'induction florale, divers changements biochimiques se produisent dans les feuilles : diminution de la quantité des chlorophylles, changement du rapport chlorophylle a — chlorophylle β .

Pour la première fois, un complexe substantiel est repéré en coïncidence avec les phénomènes internes qui précèdent le déclenchement des primordia floraux.

Histochimiquement, ce complexe présente des caractéristiques des lipides ; il contient des vitamines E et K et des stérols.

A la suite de quelles réactions métaboliques cette huile insaponifiable se forme-t-elle en longs jours pour les plantes de longs jours ? Nous l'avons également obtenue en jours courts pour des espèces de jours courts (Kalanchoë, Begonia, etc En photopériode défavorable, elle n'est pas repérable dans les feuilles de ces diverses espèces.

L'extrait brut de cette huile, étalé au pinceau sur des feuilles de plantes de Fraisier placées dans des conditions photopériodiques non inductrices ne provoque pas l'apparition de fleurs. Mais si l'extrait est appliqué sur des plants de Fraisier *dans certaines conditions*, il amène la mise à fleur d'un méristème qui ne fleurirait pas, sans cette application (C. Sironval, 1957).

Cependant, il faut reconnaître que jusqu'à présent on n'a pas encore trouvé une seule substance qui induirait la floraison chez des plantes totalement végétatives.

En bref, le complexe huileux ou la vitamine E chimiquement pure révèlent leur efficacité à condition que les méristèmes aient atteint un *stade déterminé d'évolution* et que les cellules soient prêtes à la réponse.

Qu'est-ce qui prépare le méristème à pouvoir répondre aux facteurs d'induction florale ?

La réceptivité des feuilles à l'impulsion photopériodique et la réponse des méristèmes aux produits du métabolisme des feuilles est chose complexe ; elle dépend de nombreux facteurs dont l'un est l'âge de la plante. On sait à ce sujet que les tissus doivent avoir passé le cap du stade juvénile ; d'une manière générale les plantes ne deviennent pas « génératives » dès leur germination. Le problème de raccourcir la durée de la phase juvénile pour les plantes utiles est étudié aujourd'hui dans le cadre de l'horticulture et de l'arboriculture fruitière.

En ce qui concerne les méristèmes, il n'existe guère de renseignements sur les modifications biochimiques qui correspondent à l'induction florale. Un de nos collaborateurs (Robert Crawford 1959) a étudié parallèlement l'évolution morphologique et l'évolution métabolique qui se produisent dans le bourgeon terminal de *Salvia splendens* var. feu de la Saint-Jean, plante de longs jours, pendant la période du passage de l'état végétatif à l'état floral.

Les deux principales conclusions de ce travail sont :

1) « As the young plants first react to the flower inducing stimulus, the oxygen and carbon dioxide exchange of the apical bud rises ;

2) On examining the metabolic pathways used in respiration, substrate assimilation and photosynthesis by means of radioactive carbon, no difference is found between long and short day buds of the same species ».

Par conséquent, les différences dans le métabolisme des plantes induites et non induites sont quantitatives et non qualitatives. Donc le métabolisme des bourgeons est de même type de part et d'autre quant à la nature des substrats et il n'y a pas un métabolisme particulier correspondant à l'entrée en action du stimulus et ce point a pu être clairement mis en évidence, même si rien dans le méristème ne peut déceler ce fait morphologiquement. Cette période se découvre en utilisant la technique dite des transferts employée habituellement dans nos laboratoires

depuis plusieurs années. Dans un récent mémoire, R. Crawford écrit :

« On transferring *Salvia splendens* to short days at successive intervals since the germination, it was found that the plants had only to remain 17 days in the long day growth room for flower induction to have take place. Thus the action of the long days in promoting flowering had taken place in the plant between the appearance of the 1st and 3rd nodes. Plants which had been transferred to short days before they had received the full flower inducing treatment were unable to produce normal flowers. The number of inducing photoperiods is not sufficient, id est the number of days for the initiation of flower primordia in the meristem ; the same thing, for the development of a normal flowering stalk. Thus for flowering to be successful in *Salvia* a greater number of flower inducing cycles had to be given than was necessary for the initiation of the formation of flower primordia. Struckmeyer using a short day flowering variety of *Salvia splendens* had described findings that are the same necessity for continued photoinduction, for the continued production of flowers. However some examples are known where once flower induction had been completed, the plant remains induced for ever ».

La valeur de cette technique des transferts est confirmée par l'examen microscopique des méristèmes. C'est à partir du 3^e nœud que ceux-ci révèlent la genèse des primordia floraux à partir du corpus méristématique.

D'autres critères extérieurs sont aussi utilisables pour repérer le passage des méristèmes à l'état floral, par exemple la forme des feuilles. Pour le Fraisier des 4 Saisons, les feuilles ont d'abord une foliole, puis deux, puis trois ; le nombre de dents augmente progressivement et c'est seulement lorsque les feuilles ont 50 dents que l'induction florale est réalisée et que les primordium floraux se forment (C. Sironval, 1951).

Il en résulte qu'il existe plusieurs moyens d'observation pour déterminer, dans le cours de la croissance d'un méristème, le moment où celui-ci subit le stimulus d'induction qui le rend apte à entreprendre une organogenèse florale. Cette nouvelle orientation morphogénétique s'achève par la formation de fleurs normales dans la mesure où le nombre de photopériodes induc-

trices est suffisant. Si ce nombre n'est pas atteint, des phénomènes d'avortement se présentent d'autant plus sévères que l'induction a été reçue pendant des temps courts (R. Crawford, Th. Gaspar) (Fig. 7, 8 et 9).

* * *

En ce qui concerne la nature du stimulus d'induction, nous ne savons pas encore si les produits de l'hydrolyse des chlorophylles font partie de ce stimulus qui passe à travers une greffe avec les produits de la photosynthèse, dans le phloème.

Nous ne savons pas non plus pourquoi l'hydrolyse de la chlorophylle augmente à un moment donné, pourquoi les plantes de jours courts manifestent ces phénomènes en jours courts et celles de jours longs en jours longs, ni en quoi consiste l'évolution ontogénique du méristème qui rend celui-ci apte à réagir à un moment donné et à subir l'induction florale.

Dans les expériences que nous avons rapportées ici, nous avons examiné l'action directe de la lumière et de sa durée quotidienne sur la maturation des méristèmes de tiges et nous avons proposé que la plante ressent la durée des jours par l'intermédiaire du métabolisme des pigments chlorophylliens. Le passage de l'état végétatif à l'état sexué correspond à l'installation d'une prédominance relative de l'hydrolyse de la chlorophylle sur la synthèse de celle-ci, déterminant une libération accrue de molécules de Phytol auxquelles sont apparentées les vitamines E et K.

* * *

Nous terminerons cet exposé en attirant l'attention sur l'autre face du problème de la mise à fleurs, c'est-à-dire sur ce qui se passe pendant la période obscure. De nombreux auteurs ont mis en évidence que des réactions importantes se produisent pendant cette période obscure. Ainsi dans la nuit longue que subissent les plantes, fleurissant en jours courts, un éclaircissement de faible intensité et relativement bref inhibe la floraison, tandis que dans la nuit courte que l'on fait à des plantes de jours longs un éclaircissement temporaire active la floraison et même fait



FIG. 8. — *Salvia splendens* var. feu de la St. Jean cultivé en jours longs et transféré en jours courts après un temps trop court en jours longs ; la hampe ne s'allonge pas et avorte.

Photo R. SAUVEUR.



FIG. 9. — *Salvia splendens* feu de la St. Jean cultivé en 16 heures puis transféré en 8 heures après un temps trop court ; la hampe florale avortée se prolonge par une portion de tige redevenue végétative et portant des feuilles.

Photo R. SAUVEUR.

fleurir des plantes de jours longs cultivées en jours courts, de telle sorte que certains ont tendance de classer les plantes d'après leurs exigences de la durée de la période obscure.

Pour les plantes de jours longs on n'a pas pu mettre en évidence la nécessité absolue d'une période d'obscurité, tandis que pour les plantes de jours courts, il *faut* une période d'obscurité qui doit excéder un certain minimum de durée et qui ne doit pas dépasser un optimum sinon la floraison est moins bonne. De plus on a découvert des plantes (Resende) qui sont des « long-short days plants » parce qu'elles exigent des périodes de nuits courtes puis longues.

Vers 1938, Fabian a montré que pour des plantes de jours courts l'interruption pendant 10-20 ou 60 minutes, ou davantage, de la période nocturne par une très petite quantité de lumière, 0,5 Lux, était suffisante pour les empêcher de fleurir. Par la suite, on a vu que l'on pouvait remplacer cette lumière faible de durée plus ou moins longue par un bref éclair de forte lumière. On a cherché des explications plausibles à ce phénomène mais jusqu'à présent, on en est encore aux hypothèses de travail.

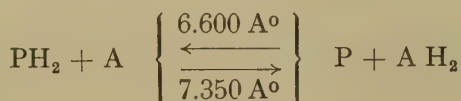
Quelles sont les réactions qui se produisent pendant l'interruption nocturne par de la lumière ?

On sait que cette action est plus ou moins indépendante de la température, qu'elle se produit au mieux aux longueurs d'onde de rouge vers 6.500 Å et que de plus, le jeu alternant des rayons rouges et infra-rouges vers 7.350 Å provoque des actions inverses, les rayons infra-rouges détruisent l'effet des rayons rouges et c'est toujours le dernier rayon appliqué qui est prédominant. C'est ce qu'on appelle « the reversible photoreaction ».

Il apparaît bien évident que la lumière qui intervient dans ce phénomène nocturne est trop faible pour qu'on puisse lui attribuer un rôle dans la photosynthèse générale. Il s'agit donc d'un autre type de phénomène que divers auteurs proposent de séparer nettement de la photosynthèse chlorophyllienne (rappelons que la chlorophylle a un maximum d'absorption dans le rouge à 6.800 Å). Il y aurait dans la lumière qui frappe les feuilles des rayons spéciaux actifs dans la morphogenèse des fleurs. On a d'ailleurs montré que non seulement la floraison mais aussi la germination des graines, des spores de fougères, l'élongation

des entre-nœuds subissaient la même action. Borthwick et ses collaborateurs en 1951, ont montré qu'il existe réellement un photorécepteur à cette action de lumière faible pendant la nuit et que ce photorécepteur doit être une chaîne ouverte tétrapyrrolique, tandis que Todd et Galston (1954) ont isolé un pigment analogue au méthyl pyrophéophorbide (a) qui est supposé actif, dans cette photoréception.

La théorie actuelle de Borthwick et de son équipe est celle-ci : le pigment photorécepteur peut exister sous deux formes, oxydée et réduite, selon l'équation suivante :



PH_2 et P représentant les formes réduites et oxydées du pigment. A H_2 et A sont les donneurs et accepteurs d' H_2 .

Si la plante est de jours longs comme *Hyoscyamus niger*, la photoréaction en lumière rouge induit la floraison.

Si la plante est de jours courts, c'est la photoréaction en lumière infra-rouge qui permet la floraison.

Comment comprendre ce phénomène ? Voici une tentative d'explication simple que nous proposons à la compréhension de ces phénomènes d'apparence contradictoires.

Dans les plantes de jours courts éclairées par la lumière d'un jour court, la photosynthèse est suffisante pour entretenir les activités photosynthétiques normales. De plus, certaines longueurs d'onde dans le rouge interviennent en même temps pour déclencher l'induction florale grâce aux photorécepteurs particuliers. Comme dans tout phénomène biologique, ce facteur inducteur est fonctionnel au mieux dans une durée optimale qui serait ici de 8 h. chaque jour. Tout supplément dépassant cet optimum, comme par exemple, un éclaircissement supplémentaire pendant la nuit dépasse cet optimum et ralentit la floraison.

Dans les plantes de jours longs éclairées par la lumière d'un jour long, l'optimum peut ne pas être atteint en 16 heures, puisqu'aussi bien l'éclaircissement d'une durée de 24 heures n'est pas nuisible. Dans ces conditions, l'appoint de lumière supplé-

mentaire dans le rouge particulièrement, pendant la nuit accroît le fonctionnement du photorécepteur.

Et si, dans ces conditions, on fait intervenir l'infra-rouge qui détruit l'action de la lumière rouge, les plantes de jours longs seront inhibées et les plantes de jours courts à nuits interrompues seront activées à condition que l'irradiation en infra-rouge ne dépasse pas la neutralisation des rayons rouges donnés en supplément pendant la nuit.

En conclusion nous dirons que :

1) Les plantes qui ne fleurissent qu'en jours longs comme celles qui ne fleurissent qu'en jours courts synthétisent dans les feuilles vertes un élément substanciel de floraison transloqué par le phloème vers les méristèmes de bourgeons, où il déclenche la formation de primordia floraux.

2) Ce stimulus n'est pas spécifique, il peut passer par greffe d'une plante de jours courts à une plante de jours longs ou réciproquement et provoquer le passage, de la même manière, de l'état végétatif à l'état floral.

3) La formation de ce stimulus dans les feuilles résulte d'un certain métabolisme chlorophyllien dans lequel l'hydrolyse de la chlorophylle prédomine sur sa synthèse. Il se produit une diminution du contenu total en chlorophylle et une libération de radicaux susceptibles de constituer un complexe contenant des vitamines E, K et des stérols.

4) Ce métabolisme particulier est commun aux deux types de plantes : il apparaît sous l'action des jours longs pour les plantes de jours longs, sous l'action des jours courts pour les plantes de jours courts.

5) Ce métabolisme résulte donc de certaines particularités génétiques, existant chez les plantes des 2 types considérés.

6) Au niveau des méristèmes, le stimulus venant des feuilles provoque une augmentation temporaire des échanges gazeux de la respiration (Oxygène et CO_2) sans qu'il y ait pour autant, modifications des voies et substrats métaboliques *normaux*.

7) La formation du stimulus de floraison résulte également

de l'action de certaines longueurs d'onde de la lumière (rayons rouges) captés par un pigment photorécepteur particulier différent de la chlorophylle mais possédant des groupes tétrapyrroliques.

8) Les plantes de jours longs se distinguent des plantes de jours courts par leur réponse à un optimum différent de la durée de la photoexcitation du pigment.

* * *

Certains auteurs actuels ne reconnaissent pas au stimulus de floraison une fonction hormonale et considèrent que ce sont uniquement les variations quantitatives des substrats du métabolisme normal qui sont *directement* responsables de l'induction florale. Cette attitude nous paraît stérile.

Les réactions de croissance et de différenciation mettent en jeu d'une manière très générale chez les êtres vivants des corps ou des radicaux à fonctions hormonales, dont la formation dépend bien entendu des activités métaboliques.

En ce qui concerne l'anthogenèse, on n'a pas encore réussi à définir entièrement la nature chimique du stimulus qui détermine l'induction mais les résultats déjà acquis démontrent que l'on est proche d'une solution satisfaisante.

Faute de place, il n'a pas été possible d'aborder l'étude de l'influence de la *température* diurne ou nocturne dont les seules variations peuvent favoriser ou empêcher la floraison comme nous l'avons montré dans le guar (*)... de l'influence de l'humidité de l'air, de celle du sol (P. Javaux (*), A. Froment (*)), de tout un ensemble de facteurs y compris la lumière. Comme ils s'influencent réciproquement, pour les analyser, il faut chercher à les *séparer*.

Pour l'instant, nous pouvons à peine comprendre les réactions intimes qui contrôlent la différenciation des organes des plantes. Mais nous pouvons déjà distinguer le rôle de certaines des substances qui sont synthétisées dans les feuilles. Elles circulent à travers les plantes et, arrivant dans les méristèmes elles déter-

(*) Résultats en voie de publication.

minent dans ceux-ci l'orientation de la différenciation vers des modèles de structures particuliers. Nous avons à considérer le fait que ces tissus doivent être préparés à réagir à ces substances. Les cellules doivent être dans un état réceptif, c'est-à-dire qu'elles doivent être compétentes.

Enfin, nous espérons que ces remarques, si elles ont quelque valeur, pourront aider à orienter de nouvelles recherches et serviront le progrès de la Physiologie végétale et de l'Horticulture.

Le texte de cette communication est tiré d'une série de conférences données en anglais dans diverses universités américaines, pendant l'année 1960, sous l'égide de l'American Scientific Foundation.

*Laboratoire de Physiologie Végétale,
Institut de Botanique, Université de Liège et
Centre de Recherches des Hormones Végétales.
(Recherches subsidiées par l'I. R. S. I. A.).*

BIBLIOGRAPHIE

- R. et M. BOUILLENNE, Oxydations respiratoires et teneur en sucres dans les deux sexes de *Mercurialis annua*. *Bull. Acad. Roy. Belg.* XVII, 7, 1931.
- R. BOUILLENNE et F. DEMARET, Échanges respiratoires en fonction de l'hydratation chez *Bryonia dioica*; tubercule de chaque sexe isolé et suivi jusqu'à la fin de l'expérience. *C. R. Soc. Biol.* CXIII, p. 1546, 1933.
- R. BOUILLENNE et L. GHENNE, Étude comparative du métabolisme des carbohydrates solubles chez les mâles et chez les femelles de *Mercurialis perennis*. *C. R. Soc. Biol.* CXIV, p. 189, 1933.
- M. BOUILLENNE-WALRAND, Les gibbérellines, facteurs auxiniques chez les plantes supérieures. *Bull. Soc. Roy. Sciences, Liège*, 9-10, 1958.
- M. BOUILLENNE-WALRAND, Action des gibbérellines sur la croissance et la floraison des végétaux supérieurs — relations avec l'acide β indol-acétique. *Symposium Phytopharmacie*, Gand, 1959.
- M. BOUILLENNE-WALRAND, Action de la gibbérelline sur la floraison de plantes horticoles. *Symposium Phytopharmacie*, Gand, 1960 (en voie de publication).
- M. BOUILLENNE-WALRAND, M. PACQUE-GILSON et R. BOUILLENNE, Rapports existant entre l'A. I. A. libre et la mise à fleurs chez *Hyoscyamus niger* L. *Bull. Soc. Roy. Sciences, Liège*, 9-10, pp. 234-240, 1960.

- R. BRONCHART, Recherches sur le dosage des auxines. I. Extraction, purification et dosage de l'acide-3-indol-acétique. *Bull. Soc. Roy. Sciences*, Liège, 4, 1957.
- R. BRONCHART, Recherches sur le dosage des auxines. II. Étude de l'évolution de la teneur en acide-3-indol-acétique libre et lié au cours du développement de *Sinapis alba* L. *Bull. Soc. Roy. Sciences*, Liège, 5, 1957.
- Ch. CHEUVART, Expériences sur le développement de *Cannabis sativa* L. (sexualité et pigments foliaires) à température constante et sous différents régimes de photopériodisme. *Bull. Cl. Sciences, Acad. Roy. Belg.* 5^{me} série XL, 1152, 1954.
- R. M. M. CRAWFORD, Respiration and Photoperiodism. *Bull. Soc. Roy. Sciences*, Liège, 1-2, 1959.
- R. M. M. CRAWFORD, Morphological and metabolic changes in the apical bud with relation to photoperiodism in *Salvia splendens*. Thèse doctorale présentée le 16-XII-59 à l'Université de Liège (en voie de publication).
- M. GILSON, Évolution quantitative de l'acide β indol-acétique chez *Hyoscyamus niger* en rapport avec la sexualisation et la floraison. *Acad. Roy. Belg. Cl. Sciences*, 5^{me} série, XLIII, 10, 1957.
- P. MARTENS, Floraison et Sexualisation. *Bull. Soc. Roy. Bot. Belgique* 90(2), 335-342, 1958.
- J. PETIT, Sur la détermination du sexe chez *Cannabis sativa* dans les conditions expérimentales du Phytotron de Liège. *Bull. Soc. Roy. Sciences*, Liège, 11, 1952.
- C. SIRONVAL, Recherches organographiques et physiologiques sur le développement du fraisier des quatre saisons à fruits rouges. *Acad. Roy. Belg. Classe Sciences*, Mém. Coll. in-8°, XXVI, 4, 1951.
- C. SIRONVAL, La photopériode et la sexualisation du fraisier des quatre saisons à fruits rouges (métabolisme chlorophyllien et hormone florigène). Thèse d'agrégation Université de Liège. *C. R. de Recherches I. R. S. I. A.*, février 1957.

A CONSULTER.

- A. LANG, Physiology of Flowering. *Annual Review of Plant Physiology*, 3, 265-306, 1952.
- A. C. LÉOPOLD, Auxin Uses in the Control of Flowering and Fruiting. *Annual Review of Plant Physiology*, 9, 281-310, 1958.
- J. LIVERMAN, The Physiology of Flowering. *Annual Review of Plant Physiology*, 6, 177-210, 1955.
- J. DOORENBOS et WELLENSIEK S. J., Photoperiodic Control of Floral Induction. *Annual Review of Plant Physiology* 10, 147-184, 1959.
- F. WENT, Thermoperiodicity dans Vernalisation and Photoperiodism. *The Chronica Botanica*. C^o Waltham, Mass, U. S. A., 145, 1948.



ACTION DES GIBBERELINES SUR LA CROISSANCE ET LA FLORAISON DES VEGETAUX SUPERIEURS. RELATIONS AVEC L'ACIDE β INDOL-ACETIQUE

par

Mme M. Bouillenne - Walrand

Institut de Botanique et Centre de Recherches des Hormones Végétales.
Université de Liège

Au cours des 25 années écoulées, l'étude du fonctionnement biochimique des organismes inférieurs a permis l'identification de deux produits d'une importance fondamentale pour les sciences théoriques et pratiques :

- 1) l'acide β indol-acétique (AIA) extrait d'abord de *Rhizopus* *suinus* sous le nom de rhizopine, puis du plasmolysat de levure, identifié ensuite à partir de 1938 comme constituant du complexe hormonal des végétaux supérieurs.

L'étude de différents processus physiologiques de croissance et de développement influencés par l'AIA a amené des techniques qui ont révolutionné la pratique horticole ou agricole (bouturage, désherbage sélectif, fruits parthénocarpiques etc...)

- 2) la gibbérelline, isolée en 1939 du liquide de culture de *Gibberella* *fujikoroi*, agent pathogène de la maladie du riz : *Bakanae*. Depuis 1958, la gibbérelline a été identifiée comme complexe issu du métabolisme normal des végétaux supérieurs.

Il est vraisemblable que les études sur la gibbérelline amèneront pour la pratique horticole et agricole des applications aussi avantageuses que celles qui sont sorties des travaux commencés en 1933 sur l'acide β indol-acétique.

* * *

Il est prématuré de vouloir formuler actuellement une image complète et exacte des actions physiologiques de la gibbérelline chez les végétaux supérieurs et encore moins d'en définir les mécanismes biochimiques. Si avant 1952, l'étude des complexes gibbérelliques était restée localisée dans les institutions scienti-

fiques japonaises (Stowe & Yamaki, 1957)*, depuis 1952, l'intérêt scientifique en a été généralisé (Brian, 1958), du fait qu'au cours des dernières années, on a pu mettre en évidence que ces complexes font partie du bagage hormonal des végétaux supérieurs. Certaines substances de croissance ont été extraites, qui ont le type d'actions physiologiques et les caractéristiques chromatographiques des gibbérellines extraites de *Gibberella fujikuroi*.

J. W. Mitchell et coll. (1951) ont, les premiers, révélé la présence de substances de croissance particulières dans les graines très jeunes de *Phaseolus*. Ces substances étaient différentes des auxines connues mais ces auteurs n'ont pas fait de rapprochement avec les gibbérellines. Murakami (1957) confirma qu'un extrait de graines vertes de *Phaseolus* contenait des substances agissant activement sur la croissance du coléoptile et de la feuille de Riz. Britton et coll. (1956), West et Phinney (1956), Margaret Radley (1956-1958) et d'autres, constatent l'existence chez les plantes supérieures de substances de croissance ressemblant aux gibbérellines. Enfin, en 1958, Mc Millan et ses collaborateurs identifient l'acide dihydrogibbérellique (GA_1) comme un des constituants des graines très jeunes de *Phaseolus multiflorus*. (Fig. 1)

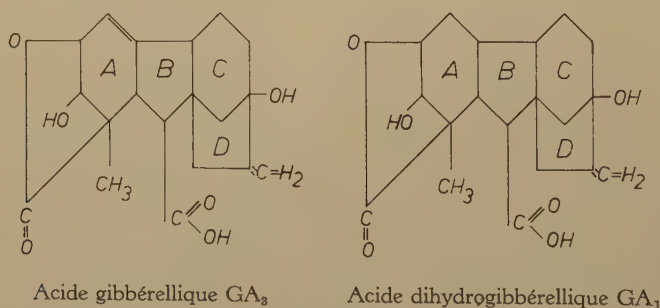


Fig. 1

Margaret Radley et Dear (1958) ont trouvé que le lait de Coco utilisé comme activant de la croissance dans les cultures de tissus contient un ou des composés gibbérelliques. Simpson (1958) décrit un test colorimétrique qui permet de

(*) Il convient cependant de signaler qu'en 1904 on a décrit (Sheldon) *Fusarium moniliformis* comme agent causal d'empoisonnement du bétail. *Fusarium moniliformis* est la forme imparfaite de *Gibberella fujikuroi* (forme parfaite). Il ne faudrait pas en déduire que l'agent toxique est la gibbérelline. Les *Fusarium* contiennent d'autres produits biologiquement actifs.

mettre en évidence des complexes gibbérelliques dans les plantules de Froment*.

Mc Comb et Carr (1958) montrent que les bourgeons de Pois normaux (variété Téléphone) contiennent des composés qui déterminent la croissance des entre-nœuds de Pois nains (variété Météor); ceux-ci ont donc selon les auteurs, une „gibberelline like activity” mais qui ne peut pas être assimilée, d'après les RF, aux gibbérellines A_1 , A_2 , A_3 ou à l'acide β indol-acétique (AIA).

Ainsi donc, à côté des composés *indoliques* du groupe de l'acide β indol-acétique (β indol-aceto nitrile, tryptamine, acide β indolpyruvique), les végétaux supérieurs possèdent un système régulateur de croissance appartenant au groupe du fluorène et il n'y a aucune raison pour ne pas le ranger dans la classe des facteurs auxiniques naturels. (Fig. 2)

De nombreux processus physiologiques sont influencés par les gibbérellines; certains ont été plus particulièrement étudiés et pourront sans doute amener des applications pratiques. Ce sont :

- 1) l'allongement des tiges principales ou secondaires et l'augmentation de la surface foliaire;
- 2) l'augmentation des poids frais et secs des végétaux traités;
- 3) le remplacement de la vernalisation et la levée de la dormance de graines, tubercules, bulbes, etc...

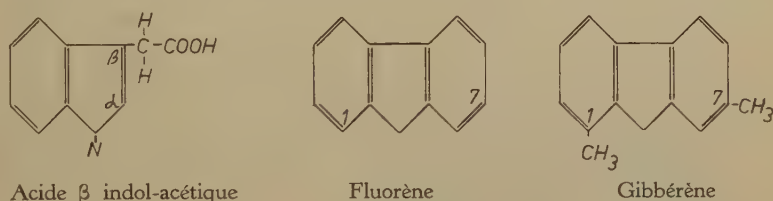


Fig. 2

Les tiges jeunes c'est-à-dire, les entre-nœuds jeunes de certaines plantes traitées à la gibbérelline manifestent une croissance extrêmement rapide. (Fig. 3) C'est souvent le bourgeon principal qui répond au traitement : la gibbérelline maintient la dominance de ce dernier au détriment des bourgeons latéraux

(*) Quatre composés gibbérelliques sont particulièrement connus.

Gibbérelline A_3 ou acide gibbérellique (GA_3) : $C_{19}H_{22}O_6$

Gibbérelline A_1 ou acide dihydrogibbérellique (GA_1) : $C_{19}H_{24}O_6$

Gibbérelline A_2 (GA_2) : $C_{19}H_{26}O_6$

Gibbérelline A_4 (GA_4) : $C_{18}H_{22}O_5$ ou $C_{19}H_{24}O_5$ (Takahashi, 1957).

Par ordre d'activité biologique décroissante, on les range ainsi : GA_3 , GA_1 , GA_4 , GA_2 , (Bukovac & Wittwer, 1958). Le plus souvent employé est l'acide gibbérellique GA_3 . Le mot, gibbérelline GA , désigne d'une manière générale l'un des complexes actifs ou l'ensemble de ceux-ci.

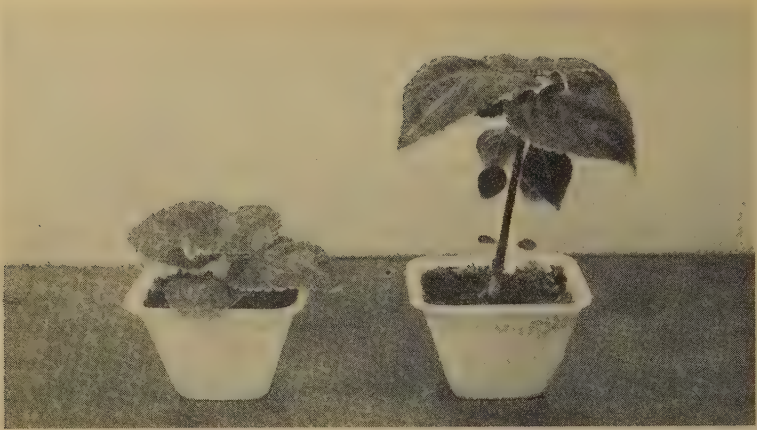


Fig. 3

Photo : R. SAUVEUR

Coleus Blumei var. Automne, âgés de 3 mois.

A gauche : Témoin.

A droite : Traité au stade cotylédonnaire, par 2 gouttes d'acide gibbérellique à 0,01 % (deux fois).

Photographie extraite d'un travail de Melle Dusart.

(Bukovac et Wittwer, 1956). Chez les Monocotylées, principalement Riz, Maïs etc., les feuilles jeunes s'allongent considérablement, parallèlement à la croissance de la tige. (Bouillenne 1958-59). (Fig. 4).



Fig. 4

Maïs : âgés de 35 jours (Expérimentés du 3 au 26 juin 1958).

A gauche : Témoin.

A droite : Traités à l'âge de 15 jours par 0,2 cc de solution d'acide gibbérellique à 0,01 % — trois traitements à 2 jours d'intervalle.

Photo : R. SAUVEUR

Cette croissance accélérée provoque une augmentation temporaire du poids frais et du poids sec des organes aériens et parfois, selon l'intensité du traitement, une légère diminution (par rapport aux témoins) des poids frais et sec des racines.

Voici un exemple de résultats pondéraux que nous avons obtenus. L'expérience que nous rapportons ici était montée en vue de déterminer l'influence de la gibbérelline seule et de la gibbérelline appliquée en même temps que de l'acide β indol-acétique (AIA) ou de l'hydrazide maléique H. M. sur des jeunes plants de Maïs. Des Maïs sont semés le 17 mars 1958, repotés le 1er avril sur terreau, traités les 22 avril, 12 mai, 15 mai par 0,2 cc de solution appliqués à la pipette dans le cornet apical des gaines foliaires. Les solutions employées sont les suivantes :

Série I Témoin

II acide gibbérellique* 0,01 %

III acide β indol-acétique 0,020 %

IV acide gibbérellique + AIA

V hydrazide maléique 0,2 %

VI acide gibbérellique + hydrazide maléique.

Le 29 mai, on récolte les cinq plus grandes plantes de chaque lot (sur 20 plantes).

Le tableau suivant donne les résultats pondéraux par plante en ce qui concerne les tiges et les racines, (les feuilles ont été utilisées aux dosages de Chlorophylle et d'A.I.A.).

TABLEAU 1

	Tiges		Racines		Total	
	P. frais	P. secs	P. frais	P. secs	P. frais	P. secs
I	4gr95	0.590	1gr23	0.174	6.18	0.763
II	7gr210	0.840	1gr720	0.268	8.93	1.10
III	2gr25	0.3714	1gr12	0.1789	3.35	0.549
IV	6gr550	0.790	agr6	0.27	8.15	1.06
	hampe florale de 8 cm					
V	2gr65	0.33	0gr4	0.068	3.05	0.398
VI	7gr25	0.89	0gr8	0.115	8.05	1.05

(*) Fourni gracieusement par la Maison ABBOT (U.S.A.).

La gibbérelline augmente donc momentanément les phénomènes de croissance de même que les poids frais et secs. Il en résulte que l'on pourrait envisager l'application de la gibbérelline sur les Monocotylées, comme le Maïs, dans le cas d'une utilisation comme fourrage.

Cette application a déjà été proposée (Wittwer et Bukovac 1959) pour les graminées de prairies.

Nous avons expérimenté en champ d'essais afin de voir si le rendement en épi pouvait, lui aussi, être amélioré par un traitement gibbérellique.

Dans ce cas, nous n'avons pas enregistré de différences valables dans le nombre des épis (de 1.1 à 1.4 par plante, moyenne sur 100 plantes); mais il n'y a pas eu de déformations. La floraison des plantes traitées à la gibbérelline a été accélérée par rapport aux autres — sauf la série 6 — Les poids totaux des épis débarassés des bractées et séchés sont très approximativement les mêmes, dans toutes les séries (sauf la 5ème). Il en est de même aussi pour le poids de chaque épi :

1) témoin	55,2 gr. (moyenne sur 50 épis)
2) Acide gibb.	57 gr.
3) A.I.A.	60 gr.
4) AIA+Ac gibb.	54 gr.
5) H.M.	48,8 gr.
6) Ac gibb.+H.M.	52,4 gr.

La gibbérelline, lorsqu'elle sera accessible à des prix intéressants et aussi les succédanées synthétiques que les chimistes nous livreront sans doute, pourront rendre des services appréciables dans tous les cas où il est souhaitable que la croissance végétative et la floraison soient hâtées et activées. Dans les pays froids ou souffrant de sécheresse, certaines espèces, en effet, n'atteignent pas leur taille et leur développement maximum et il arrive aussi que la floraison et la maturation des fruits se fassent mal.

Enfin, l'action de la gibbérelline mérite une mention spécialement intéressante dans le cas des *mutants génétiques nains* : Pois, Haricots, Maïs, Riz (Brian et Hemming 1955, Phinney 1956).

Certains d'entre ces mutants réagissent en reprenant la taille du phénotype normal (5 variétés de Maïs nains), d'autres ne sont pas influencés par un traitement gibbérellique (4 variétés de Maïs nains). Les auteurs en concluent que la nanisme résulte de plusieurs types de lésions biochimiques. Mais s'il est vrai que la gibbérelline peut rendre à des mutants nains la taille et l'aspect

du phénotype normal, les graines produites sur les plantes traitées restituent des plantes naines. Il semble donc que le nanisme de ces mutants soit provoqué par l'incapacité génétique à produire les substances de croissance du type gibbérelline qui seraient nécessaires pour obtenir une plante normale. On connaît trop bien pour devoir y insister, les mutants génétiques de *Neurospora*, incapables de synthétiser la thiamine (vitamine B₁).

Une action très caractéristique des gibbérellines est la levée de la dormance des graines, des tubercules, des bourgeons latents, ainsi que le remplacement de la vernalisation (traitement par le froid).



Fig. 5

Photo : R. SAUVEUR

Perilla nankinensis âgés de 165 jours cultivés en 16 h. de jour (lum. naturelle).

- I. : Témoin.
- II. : Traité — a reçu par vaporisation sur jeunes feuilles, 1/9 cc de gibbérelline à 10 mgr %, à l'âge de 116 jours. La hampe a déclenché son allongement; mais il n'y a pas de fleurs, car la photopériode de 16 heures ne convient pas pour cette espèce de jours courts.

Hyoscyamus niger âgés de 155 jours cultivés en 8 h. de jour (lum. naturelle).

- I. : Témoin
- II. : Traité : vaporisé à l'âge de 52 jours, pendant 11 jours (2 cc par plante) par la gibbérelline à 10 mgr %. La hampe s'est allongée; mais il n'y a pas de fleurs, car la photopériode de 8 heures ne convient pas pour cette espèce de jours longs.

Lang (1956) a montré que, chez une variété bisannuelle de *Hyoscyamus*, la vernalisation détermine la croissance de la tige à partir de la rosette. La hampe ainsi formée ne portera de fleurs que si les plantes reçoivent une photopériode correcte (ici longue). Nous avons également obtenu, par traitement gibbérellique de plantes d'*Hyoscyamus niger* (plante de jours longs) et de *Perilla nankinensis* (plante de jours courts), une poussée de pseudo-hampes florales; mais celles-ci ne portaient aucune fleur parce que la culture a été faite en photopériode incorrecte. (Fig. 5)

L'allongement de la hampe et la floraison sont deux phénomènes physiologiques différents, ce qui revient à dire que la gibbérelline ne suffit pas à induire la floraison chez des plantes qui ne reçoivent pas la photopériode requise (Bouillenne 1958 Wellensiek 1958).

* * *

Les questions posées actuellement aux Physiologistes sont les suivantes :

1) La gibbérelline est-elle une auxine?

Oui, au sens strict du mot; puisque son activité physiologique principale réside dans l'élongation cellulaire dont elle recule considérablement la limitation.

Cependant certains auteurs (Kuse 1958) ne considèrent pas la gibbérelline comme une véritable auxine.

2) Peut-elle agir indépendamment de l'A.I.A.?

Ce n'est pas, à notre connaissance, démontré de manière irréfutable.

Toutes les analyses que nous avons faites montrent : a) que dans les plantes qui réagissent positivement à une application de la gibbérelline, il y a toujours augmentation du taux d'A.I.A. endogène; b) que la gibbérelline n'agit qu'en présence d'A.I.A. endogène ou appliqué.

Nous avons particulièrement examiné les teneurs en A.I.A. libre, dans des feuilles de Maïs soumises aux traitements indiqués page 6. Les dosages d'A.I.A. sont réalisés selon la méthode mise au point à Liège par Bronchart, 1956 (*).

Voici les résultats obtenus dans trois séries expérimentales : les chiffres sont exprimés en γ par kg de matière fraîche. (voir tableau II)

(*) Les dosages d'A. I. A. ont été effectués par Mme Pacqué, Assistante et Mme El Tannir-Lomba, technicienne.

TABLEAU II

Séries		A.I.A. libre
Témoin	1	10
	2	14.1
	3	8.6 et 9.3
Traitées		
par G.A.	1	14.6
	2	20.8
	3	24.5
par A.I.A. seul	1	7.9
	2	
	3	
par G.A. + A.I.A.	1	
	2	34
	3	24.3
par H.M. seul	1	17.3
	2	
	3	16.2
par H.M. + G.A.	1	22
	2	14.3
	3	21.4

Il faut examiner les chiffres obtenus par série expérimentale, les teneurs en A.I.A. libre variant évidemment considérablement aux différents moments (*).

D'une manière générale, la gibbérelline augmente le taux d'A.I.A. endogène lorsqu'elle est appliquée seule ou en combinaison avec l'H. M. ou avec l'A.I.A.; mais tandis que l'H.M. provoque une sensible augmentation d'A.I.A. endogène et stoppe la croissance, la gibbérelline augmente la teneur en A.I.A. et intensifie la croissance.

Nitsch (1957) a obtenu des résultats semblables sur des bourgeons ligneux. De même dans les Pois nains, où la gibbérelline lève l'inhibition de croissance due à une mutation génétique, il y a de l'A.I.A. en quantités dosables (**).

Par contre, dans des plantes comme *Lepidium rudérale* L. où plusieurs applications de gibbérelline n'ont pas provoqué d'allongement de la rosette, nous n'avons pu mettre en évidence de

(*) Les teneurs d'A. I. A. liés, dans les différents tissus, sont en voie d'analyse.

(**) En voie de publication.

quantités dosables d'A.I.A. libre. Il nous paraît donc que l'hypothèse de travail la plus plausible actuellement est celle-ci :

Certains phénomènes de croissance peuvent s'effectuer avec A.I.A. seul (*) (coléoptile d'Avoine), d'autres (comme la levée du nanisme) ne peuvent se réaliser qu'en présence d'A.I.A. et de gibbérelline. L'A.I.A. seul ou la gibbérelline seule ne suffisent pas.

Cela suppose que les plantes disposent de plusieurs systèmes de croissance ou que cette croissance tout au moins s'accomplit en plusieurs phases indépendantes biochimiquement et nous rejoignons, ici, l'idée de Van Overbeek, 1959, qui pense que les auxines naturelles, celles du groupe indol-acétique, et celles du groupe gibbérelline dominent chacune des étapes séparées de la croissance.

Brian et Hemming (1958) font intervenir 3 facteurs dans les phénomènes d'élongation des entre-nœuds de Pois : A.I.A., gibbérelline (ou une hormone ayant les propriétés physiologiques de la gibbérelline) et un inhibiteur de l'A.I.A. qui serait neutralisé en présence de gibbérelline, les potentialités de croissance étant contrôlées par les auxines du type A.I.A.

Pour ces auteurs donc la gibbérelline est un facteur auxinique.

De même Galston et Warburg, 1959, font intervenir dans le métabolisme Auxine-Gibbérelline un troisième facteur — de nature phénolique — qui protégerait l'auxine.

D'autre part, certains (Pilet 1957) ont montré que la gibbérelline empêche la destruction oxydasique de l'A.I.A. (indol-acétique-oxydase). Ceci corrobore nos résultats et ceux de Nitsch sur l'augmentation du taux d'A.I.A. dans les plantes traitées à la gibbérelline.

Quoi qu'il en soit, il est beaucoup trop tôt pour échafauder une théorie de la cinétique des gibbérellines. Mais ce que l'on doit retenir, c'est que les découvertes concernant la gibbérelline ont déclenché un renouveau d'intérêt dans l'étude des facteurs de croissance élaborés par les végétaux. Elles ont fait entrevoir qu'il peut exister d'autres auxines que celles du groupe indol-acétique, ou d'autres facteurs de croissance agissant comme compléments des auxines.

(*) A moins qu'on ne démontre la présence de gibbérelline dans ces tissus.

LISTE BIBLIOGRAPHIQUE

1. BRIAN, P. W. (1958) — Effects of gibberellins on plant growth and development. *Biolog. Rev. (Cambridge Philosoph. Soc.)* **34** (1) : 37-85.
2. BRIAN, P. W. et HEMMING, H. G. (1955) — The effect of gibberellic acid on shoot growth of pea seedlings. *Physiol. Plant.* **8** : 609-81.
3. BRIAN, P. W. et HEMMING, H. G. (1958) — Complementary action of gibberellic acid and auxins in pea internode extension. *Ann. Bot.* **22** : 1-17.
4. BRITTON, G., et coll. (1956) — Studies in Plant Growth Hormones. V Chromatography of Hormones in excised and intact roots of Tomato seedlings. *Journ. Exper. Bot.* **7-20** : 239-251.
5. BOUILLENNE-WALRAND, M. (1958-1959) — Les gibbérellines, facteurs auxiniques chez les plantes supérieures. I et II. *Bull. Soc. Roy. Sciences de Liège* n° 9-10 (1958) et 1-2 (1959).
6. BRONCHART, R. (1957) — Recherches sur le dosage des auxines. I. Extraction, purification et dosage de l'acide 3-indolacétique. *Bull. Soc. Roy. Sc. Lg.* n° 4, 1957.
7. BUKOVAC, M. J. et WITTWER, S. H. (1958) — Comparative biological effectiveness of the gibberellins. *Nature*, **181** : 1484.
8. BUKOVAC, M. J. et WITTWER, S. H. (1956) — Gibberellic acid and higher plants. General growth responses. *Quart. Bull. Mich. agric. Exp. Stat.* **39** : 307-320.
9. GALSTON, A. W. & WARBURG, H. (1959) — An analysis of auxin-gibberellin interaction in pea stem tissue. *Plant Physiology*, **34**, 1, 16-22.
10. KUSE, G. (1958) — Necessity of auxin for the growth effect of gibberellin. *The Botanic Magaz. Tokyo* **71** (838) : 151-59.
11. LANG, A. (1956) — Stem elongation in a rosette plant, induced by gibberellic acid. *Naturwissenschaften*, **43** : 257-8.
12. LANG, A. (1956) — Induction of flower formation in biennial *Hyoscyamus* by treatment with gibberellin. *Naturwissenschaften*, **43**, 284-85.
13. 13. Mc COMB, A. J. et CARR, D. (1958) — Evidence from a dwarf pea bio-assay for naturally occurring gibberellins in the growing plant. *Nature*, **181**, 1548-9.
14. Mc MILLAN, J. et SUTER, P. J. (1958) — The occurrence of Gibberellin A₁ in Higher Plants : isolation from the seed of Runner bean (*Phaseolus multiflorus*). *Die Naturwissch.* **2** (46).
15. MITCHEL, J. W., SKAGGS et ANDERSON (1951) — Plant growth stimulating hormones in immature bean seeds. *Science (Lancaster P. A.)*, **114**; 159.
16. MURAKAMI, Y. (1957) — The effect of the extract of immature bean seeds on the growth of coleoptile and leaf of rice Plant. *Bot. Mag. Tokio*, **70**; 376-82.
17. NITSCH, J. P. (1957) — Growth response of woody plants to photoperiodic stimuli. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* **70** : 512-525.
18. PILET, P. E. (1957) — Action des gibbérellines sur l'activité auxine-oxydasique de tissus cultivés in vitro. *C. R. Acad. Sc. Paris* **245** : 1327.
19. PHINNEY, B. O. (1956) — Growth response of single gene dwarf mutants in Maïs to gibberellic acid. *Proc. Nat. Acad. Sci. Washington*, **42**; 185-9.
20. RADLEY, Marg. (1956) — Occurrence of substances similar to gibberellic acid in higher plants. *Nature*, **178** : 1070-1.
21. RADLEY Marg. (1958) — The distribution of substances similar to Gibberellic acid in higher Plants. *Ann. Bot.* **22** (87); 298-307.
22. RADLEY, M. et DEAR, E. (1958) — Occurrence of gibberellin like substances in the Coconut. *Nature*, **182**; 1098.

23. SHELDON, J. L. (1904) — *Nebraska Agr. Expt. Stat. Rept.* 23-32.
24. SIMPSON, G. M. (1958) — A colorimetric test for gibberellic acid and evidence from a dwarf pea assay for the occurrence of gibberellin like substance in wheat seedlings. *Nature*, **182**, 528-9.
25. STOWE, B. et YAMAKI, T. (1957) — The history and Physiological action of the Gibberellins. *Annual Review of Plant Physiology* **8** : 181-216.
26. TAKAHASHI, N. et coll. (1957) — A new gibberellin A₄. Biochemical studies on the Bakanae fungus. *Bull. Agric. Chem. Soc. Japan*, **21**; 396-8.
27. VAN OVERBEEK, J. (1959) — Auxins. *Botan. Rev.*
28. WELLENSICK, S. J. (1958) — La base théorique de la floraison. *Ateneo Parmense*, **29** (4) : 3-8.
29. WEST et PHINNEY (1956) — Properties of gibberellin-like factors from extracts of higher plants. *Plant Physiology* (Suppl.) **31** (20).
30. WITTWER, S. H. et BUKOVAC, M. (1957) — Gibberellin and higher plants. Promotion of growth in grass at low temperatures. *Quart. Bull.* **39**; 682-6.

R E S U M E

Le complexe „gibbérelline” fait partie du bagage normal des facteurs de croissance chez les végétaux supérieurs. Des applications pratiques de gibbérellines pour l'accélération et l'intensification des phénomènes de croissance et de floraison sont possibles mais le déclenchement de la floraison dépend d'autres facteurs.

L'étude des rapports entre acide β indol-acétique et gibbérelline montre que :

- 1) la gibbérelline augmente la concentration d'AIA libre dans les végétaux dont elle accélère la croissance (Maïs, Pois nains);
- 2) dans les cas (*Lepidium rudérale* L.) où la gibbérelline ne fait pas apparaître d'AIA libre, en quantité appréciable, il n'y a pas non plus accélération des phénomènes de croissance.

Certains phénomènes de croissance nécessitent donc la présence simultanée d'AIA et de gibbérelline.

Nos résultats ne permettent pourtant pas d'affirmer que AIA et gibbérellines sont obligatoirement liés pour toutes les phases de la croissance.

S e m a l, G e m b l o u x

Q : Influence de la gibbérelline sur les microorganismes?

R : On a peu encore étudié ce problème, cependant quelques auteurs ont noté une action positive de la gibbérelline sur la division cellulaire et la croissance des cellules d'organismes inférieurs, mousses, algues, ce qui semble indiquer que la gibbérelline est apparue très tôt dans l'évolution des plantes.

Pour les bactéries et virus, je n'ai pas d'informations.

K o e k, P. C., Aalsmeer

Q : Est ce qu'il y a une différence entre les différents types de gibbérelline et comment est le dosage de ces types pour la pratique?

R : On emploie le terme général de gibbérelline pour désigner le complexe de substances isolées des cultures de *Gibberella fugikoroï* et dont la structure chimique est rattachée au fluorène (hydrocarbure existant dans les charbons).

On a isolé jusqu'à présent de ce complexe 4 substances pures :

- l'acide gibbérellique ou G.A.₃ (le plus employé dans les expériences de laboratoire).
- la gibbérelline G.A.₁ ou acide dihydrogibbérellique.
- la gibbérelline G.A.₂.
- et tout récemment la gibbérelline G.A.₄.

Leur activité de croissance est dans l'ordre suivant :

G.A.₃ > G.A.₁ > G.A.₄ > G.A.₂

Pour la séparation et le dosage des complexes gibbérelliques, on utilise généralement la chromatographie sur papier. On isole les bandes qui correspondent au Rf de l'acide gibbérellique et on évalue l'activité comme substance de croissance des produits isolés par comparaison avec des *étalons*; l'activité de croissance est faite soit sur feuilles d'Orge, Riz, Avoine, soit sur entrenœuds de Pois nains. Certains auteurs utilisent aussi comme technique de dosage la propriété des gibbérellines, traitées par une solution à 5 % d'acide sulfurique dans l'alcool éthylique, de présenter en lumière U. V. une fluorescence caractéristique.

R o l a n d, Gembloux

Q : Comment appliquez-vous la gibbérelline?

R : Soit par vaporisation d'une quantité connue de solution gibbérellique (à 0,01 %) par plante traitée, soit en déposant sur les sommets des plantes jeunes une ou deux gouttes de solution (pour les monocotylées ce moyen est très économique et très pratique).





SUBSTANCES DE CROISSANCE ET CHLOROPHYLLE

I. Action de la Gibbérelline sur les teneurs en Chlorophylle de mutants génétiques nains de Maïs (Dr. PHINNEY).

II. Action de la Gibbérelline et de l'Acide β indol-acétique (A.I.A.) sur une variété normale de Maïs (« Spancross »).

par M. BOUILLENNE-WALRAND et R. BOUILLENNE

Le répertoire des actions de la gibbérelline sur divers processus physiologiques et biochimiques des végétaux supérieurs a été dressé à différentes reprises depuis 1954 (CHOUARD, 1958 ; YAMAKI, 1957 ; BOUILLENNE, 1958 ; BRIAN, 1959 ; B. STOWE et YAMAKI, 1959).

La réaction de chlorose des feuilles de plantes traitées à la gibbérelline et ayant, de ce fait, subi un allongement anormal est bien connue (BRIAN, 1954 ; BOUILLENNE, 1958). Les questions qui se posent aux biochimistes sont de savoir si cette chlorose est due :

1. A une destruction de la chlorophylle existante ;
2. A une répartition des chloroplastes dans des cellules plus grandes ;
3. A une insuffisance de la synthèse des nouveaux pigments en rapport avec l'allongement des parties jeunes du végétal.

Divers essais effectués à Liège, depuis 1957, ont montré que la réaction de chlorose dépend entr'autres de la dose de gibbérelline appliquée, de la vitesse d'allongement des organes verts et des espèces végétales mises en expérience : les feuilles de Maïs, de Geranium, qui réagissent fortement, subissent une chlorose très nette, tandis que celles de Cyclamen, qui réagissent cependant avec la même vigueur en ce qui concerne la croissance montrent des feuilles qui ont très approximativement la même coloration que les témoins (vraisemblablement parce que la réaction de chlorose est masquée par des pigments surnuméraires non chlorophylliens).

Pour résoudre les trois questions posées plus haut, nous avons entrepris plusieurs expériences, sur une variété normale de Maïs (*Zea Maïs Spancross*) et sur des mutants nains génétiques de Maïs, que nous devons à l'amabilité du Dr. PHINNEY (14 séries de mutants numérotées de 1 à 14, voir liste tableau I).

Le principe de ces expériences est basé sur les considérations suivantes :

1. Si des feuilles de mutants nains, traitées à la gibbérelline, ne réagissent par aucune action de croissance et si elles ont les mêmes quantités de chlorophylle que les témoins, on pourra conclure que la gibbérelline aux doses utilisées ne détruit pas la chlorophylle.

2. Si des feuilles de mutants nains réagissent à une application de gibbérelline par une croissance rapide et intense et si elles ont, pour une *même surface* de feuille, moins de chlorophylle, mais approximativement autant de chlorophylle par feuille entière que des témoins, on pourra conclure à un étalement des chloroplastes sur une plus grande surface.

3. Enfin si, par adjonction de sels de Mg. au traitement par la gibbérelline, on peut diminuer la chlorose des parties jeunes, c'est que la formation des pigments chlorophylliens ne suit pas les phénomènes d'agrandissement provoqués par la gibbérelline dans les conditions habituelles d'expérience.

Les résultats expérimentaux rapportés dans la présente note permettent de répondre, tout au moins partiellement, aux questions posées.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

I. Sur mutants génétiques nains de Zea Maïs :

Des graines des 14 séries de Maïs sont semées dans du terreau (terrines en plastique de $9 \times 9 \times 6$ cm.). Elles sont maintenues en serre de Phytotron à 20 °C. constants et 80-90% d'humidité relative.

Ces différentes séries donnent chacune des plantes normales et des plantes naines, en proportions variables (voir tableau I.).

Les expériences commencent le 9 novembre 1959. L'éclairement est celui du jour normal augmenté de celui de tubes « Phytor C.R.H.Lg. » (3.000 Lux) pendant 16 heures par jour.

Les traitements à l'acide gibbérellique ont lieu les 5, 12, 16 janvier

1960 : on dépose dans le cornet des jeunes feuilles environ 125 γ par traitement. Chaque plante reçoit donc en tout 375 γ (*).

34 jours après le dernier traitement, soit les 19 et 20 février, on mesure les tailles des plantes de chaque série et on en obtient les moyennes :

Témoins normaux :

(séries 9 à 14) : 53 cm.

(séries 7 et 8) : 55 cm.

Nains témoins :

(séries 9 à 14) : 20 cm.

(séries 7 et 8) : 20 cm.

Nains traités :

(séries 9 à 14) : $\pm$ 35 cm. (aspect de plante normale)

(séries 7 et 8) : $\pm$ 18 cm. (aspect de plante naine).

On voit que les nains des séries 7 et 8 sont tous réfractaires à l'action de la gibbérelline ; les témoins gardent exactement les mêmes tailles que les plantes traitées.

Nous avons donc ici deux séries de mutants nains caractérisés par une propriété remarquable : tous ceux d'origine génétique : « segregating 5N : ldl », réagissent fortement à la gibbérelline et grandissent, prenant un aspect normal ; tous ceux d'origine : « dominant dwarf A ou B » (7 et 8) sont indifférents à la gibbérelline.

Le dosage des chlorophylles a et b se fait en utilisant la formule de ZSCHEILE et COMAR (1941 (**)).

On prélève dans le limbe, à l'emporte-pièce des pastilles de tissus de 2,43 mm². Celles-ci sont prises toujours :

1. sur la 2^e feuille à partir du sommet, c'est-à-dire sur la feuille qui termine sa croissance et qui est fonctionnelle (la 1^e feuille au sommet est encore roulée en cornet à l'aisselle de la 2^e) ;

(*) Dans la présente note, nous donnerons les résultats obtenus sur les séries 7 à 14.

(**) La formule de ZSCHEILE et COMAR a été calculée sur des solutions de chlorophylles dans l'éther sulfurique. Nous utilisons l'acétone désoxydé sur Baryum, ce qui entache nos résultats d'une certaine erreur ; mais celle-ci n'empêche pas une comparaison valable des résultats ; au surplus, les sommets établis par MACKINNEY en 1940 avec des solutions acétoniques sont respectivement 663 et 645 m μ au lieu de 660 et 642.5 pour les chlorophylles a et b et l'appareil de Beckman dont nous disposons, étant étalonné de 5 en 5 m μ , ne permet guère d'obtenir des précisions dépassant l'erreur due à la nature du solvant.

2. à la même heure, entre 9 et 11 heures ;

3. en dehors des nervures, à différents endroits des limbes.

L'analyse est faite sur 10 pastilles prélevées sur la 2^e feuille de 5 plantes homologues à raison de 2 pastilles par feuille.

TABLEAU I

Pourcentage de plantes normales et naines dans les différentes séries de Maïs nains (Dr. PHINNEY)

N° des séries	Origine génétique (Phinney)	Pourcentage de	
		normaux	nains
1	3N.l ₅ — 158	83	17
2	» — 168	75	25
3	» — 211	87	13
4	» — 230	93	7
5	» — 232	68	32
6	» — 240	66	34
7	Dominant dwarf. A seed open	50	50
8	Dominant dwarf. B seed open	50	50
9	Segregation 5N : l ₁	72	28
10	»	56	44
11	»	60	40
12	»	80	20
13	»	72	28
14	»	93	7

Teneurs en chlorophylles des mutants nains de Zea Maïs.

Les dosages de chlorophylles a et b ont été réalisés à la fois sur les plantes normales et sur les plantes naines des séries 7 à 14 non traitées, et sur les plantes naines traitées à la gibbérelline.

Les résultats des dosages de chlorophylles de ces mêmes séries figurent au tableau II.

1. Dans les séries 9 à 14, les *Maïs nains* contiennent, par unité de surface (100 cm²) et par feuille entière, plus de chlorophylle (a et b) que les Maïs normaux de ces mêmes séries ; ce qui est d'ailleurs évident, même sans dosage ; les feuilles des plantes naines sont d'un vert beaucoup plus accentué que les feuilles des plantes normales.

TABLEAU II

Évaluation des quantités de chlorophylles, en mgr par 100 cm² de feuilles et par feuille entière

Date du prélèvement	Numéros des séries des Chlorophylles en mgr./100 cm ²	Concentration		a/b	Surface moyenne de la feuille examinée en cm ²	Valeur totale des chlorophylles dans la feuille, en mgr.		
		Chlo. a	chlo. b			Chlo. a	chlo. b	a + b
13 janvier	séries 9 à 14 taille normale ; témoins non traités	0.938	0.238	3.93	60.1	0.563	0.143	0.706
13 janvier	séries 9 à 14 : taille <i>naine</i> ; témoins non traités	1.895	0.411	4.6	37.38	0.708	0.153	0.861
19 janvier	séries 9 à 14 : taille naine ; traitées à l'acide gibbérellique ; activation de la croissance	1.236	0.286	4.32	49	0.605	0.139	0.744
1 février	séries 7 et 8 : taille naine ; témoins non traités	1.603	0.354	4.52	37	0.593	0.131	0.724
1 février	séries 7 et 8 : taille naine, traitées à l'acide gibbérellique ; pas d'activation de la croissance	1.431	0.328	4.35	40	0.572	0.1312	0.7032

Le total des chlorophylles (a et b) pour 100 cm² est respectivement de 2.306 mgr. pour les nains et 1.176 mgr. pour les normaux. Par feuilles entières la différence est moins forte puisque la surface des feuilles naines est la moitié environ de celle des feuilles normales.

2. Dans les séries 7 et 8, dans lesquelles il y a 50 % de nains, les Maïs nains contiennent par unité de surface (100 cm²) et par feuille entière moins de chlorophylle (a et b) que les Maïs nains des séries 9 à 14.

3. a) Le traitement à la gibbérelline des *nains* des séries 9 à 14 fait diminuer les teneurs chlorophylles a et b des feuilles.

	<i>pour 100 cm²</i>	<i>pour une feuille entière</i>
Chlor. a :	témoins : 1.895	0,708
	traités : 1.236	0,605
	différ. : 0.659	0.103
Chlor. b :	témoins : 0.411	0.153
	traités : 0.286	0.139
	différ. : 0.125	0.014
Chlor. :	témoins : 2.306	0.861
totale	traités : 1.522	0.744
	différ. : 0.784	0.117

valeurs exprimées en mgr.

Si on ramène à 100 mgr de chlorophylle du témoin, les diminutions des teneurs en chlorophylle des Maïs nains sont :

	<i>pour 100 cm²</i>	<i>par une feuille entière</i>
Chlor. a :	$\frac{0.659 \times 100}{1.895} = 35 \%$	$\frac{0.103 \times 100}{0.708} = 14.5 \%$
Chlor. b :	$\frac{0.125 \times 100}{0.411} = 30 \%$	$\frac{0.014 \times 100}{0.153} = 9.1 \%$
Chlor. :	$\frac{0.784 \times 100}{2.306} = 34 \%$	$\frac{0.117 \times 100}{0.861} = 13,5 \%$
totale		

La diminution des teneurs en chlorophylle est donc surtout sensible si on la ramène à une unité de surface.

b) Si on établit les mêmes calculs en ce qui concerne les séries naines 7 et 8, qui ne réagissent pas à l'acide gibbérellique, on obtient les chiffres suivants :

	<i>pour 100 cm²</i>	<i>pour une feuille entière</i>
Chlor. a : témoins	: 1.606	0.593
traités	: 1.431	0.572
	-----	-----
différ.	: 0.172	0.021
Chlor. b : témoins	: 0.354	0.131
traités	: 0.328	0.131
	-----	-----
différ.	: 0.026	0.000
Chlor. : témoins	: 1.957	0.724
totale traités	: 1.759	0.703
	-----	-----
différ.	: 0.198	0.021

Par rapport à 100 mgr. de chlorophylle dans les témoins, on a :

	<i>pour 100 cm²</i>	<i>par feuilles entière</i>
chlor. a :	$\frac{0.172 \times 100}{1.603} = 11 \%$	$\frac{0.021 \times 100}{0.593} = 3.5 \%$
Chlor. b :	$\frac{0.026 \times 100}{0.354} = 7.3 \%$	
Chlor. : totale	$\frac{0.198 \times 100}{1.957} = 10.1 \%$	$\frac{0.021 \times 100}{0.724} = 3 \%$

De cette expérience on peut donc conclure :

1) la chlorose des feuilles qui grandissent sous l'influence de l'acide gibbérellique est dûe bien plus à une dilution du pigment qu'à une destruction de celui-ci par le traitement ;

2. les feuilles qui ne réagissent pas à l'acide gibbérellique gardent très approximativement les mêmes teneurs en chlorophylle ;

3) Les rapports $\frac{\text{chlor. a}}{\text{chlor. b}}$ ne sont pas sensiblement changés par le traitement gibbérellique ;

4) L'acide gibbérellique ne paraît donc intervenir que très indirectement dans le métabolisme chlorophyllien.

II. — Sur l'influence des sels minéraux ajoutés au traitement de Maïs normaux (var « Spancross ») par la gibbérelline ou par l'acide β indol-acétique (A.I.A.)

Les feuilles de Maïs normal (variété Spancross) qui ont subi l'action de croissance de l'acide gibbérellique grandissent considérablement et rapidement par leur région basale. Cette région apparaît comme particulièrement chlorotique.

Il convient donc d'examiner séparément, au point de vue pigmentaire, les parties basales et les parties terminales des feuilles, dans le cadre d'une expérimentation où les plantes de Maïs traitées à l'acide gibbérellique reçoivent dans les solutions minérales de culture un supplément de Magnésium. Cet appoint de Magnésium aura-t-il une influence sur les teneurs en chlorophylle des deux régions foliaires ?

La réponse nous permettrait de déterminer si la chlorose est due particulièrement à une déficience de formation de chlorophylles par rapport à la croissance cellulaire.

Enfin, nous avons réalisé aussi une série expérimentale en utilisant l'autre substance de croissance naturelle, l'acide β indol-acétique dont les actions physiologiques ne sont pas toutes similaires à celle de la gibbérelline (BOUILLENNE, 1958).

Des Maïs normaux sont semés en terrine le 20 mai 1958, empotés le 28 mai. Le 3 juin, ces jeunes plantes, âgées de 15 jours, ont en moyenne 20 cm. de haut ; la 3^e feuille est jeune et en pleine croissance ; la 4^e pointe dans le cornet de la 3^e feuille.

On divise les plantes en 3 séries expérimentales de 15 plantes chacune ; les sujets sont choisis aussi homogènes que possible.

— Les plantes de la série I. sont les témoins.

— Les plantes de la série II. sont traitées à l'acide gibbérellique (0.010 %).

— Les plantes de la série III. sont traitées à l'A.I.A. (0,02 %)

Dans chaque série, on fait 3 lots de 5 plantes :

— Lot A arrosé à l'eau.

— Lot B arrosé au sol par une solution minérale de pH 4.9 à 5, comprenant par litre :

Mg SO₄ 7 H₂ O : 0.699 gr.

Ca(NO₃)₂ 4 H₂O : 0.839 gr.

K₃ PO₄ : 1. gr.

Sol. ac. citrique : 2 cc.

à 10 %

— Lot C les feuilles sont vaporisées par la même solution.

Les plantes sont traitées les 4-6-10 juin, soit par l'acide gibbérel-lique, soit par l'A.I.A. Elles reçoivent chacune 0,2 cc de la solution à 0.010 %, dans le cornet du sommet.

— Les plantes de la série I. (témoin) reçoivent de l'eau (A), des sels minéraux dans le sol en (B) et des sels minéraux vaporisés en (C).

— Celles de la série II. reçoivent en plus de l'acide gibbérel-lique, en tout 60 γ par plante.

— Les plantes de la série III. reçoivent de l'A.I.A., en tout 120 γ par plante.

Le 16 juin, on prélève à l'emporte-pièce dans chacune des 5 plantes de chaque lot et de chaque série des pastilles de tissus foliaires à la base (partie n° 1), et au sommet des feuilles (partie n° 2). Comme ces cultures de Maïs normal sont faites dans la serre du Phytotron, à la lumière naturelle du mois de juin, les plantes sont plus avancées que celles des premières expériences. Dans ce cas, ce n'est plus la 2^e feuille qui a été utilisée mais la 3^e.

On effectue donc le dosage des chlorophylles sur 5 pastilles de parenchyme. Les opérations de prélèvement sont commencées le matin et dans un ordre correspondant au traitement soit : IA IIA IIIA, IB IIB IIIB, IC IIC IIIC, ceci de manière à diminuer autant que possible les variations de teneurs en chlorophylle dûes au moment de la journée. Il résulte de ceci que l'on ne peut comparer entre eux que des résultats obtenus sur des parenchymes chlorophylliens prélevés très approximativement à la même heure.

Les teneurs en chlorophylles a et b sont calculées en mgr. par rapport à 100 cm² de surface foliaire soit basale, soit distale. On évalue le poids sec de ces 100 cm², en prélevant la 3^e feuille de trois plantes, dont on mesure la surface, le poids frais et le poids sec.

Résultats des mesures biométriques.

On voit que les feuilles traitées à l'acide gibbérel-lique ont une surface plus considérable que celles des 2 autres séries ; elles présentent également un poids frais et un poids sec plus considérables. Par unité de surface de 100 cm², les poids secs sont approximativement partout du même ordre.

Il est clair que l'accroissement gibbérel-lique n'est pas simplement

le résultat d'une prise d'eau puisque les poids secs, par unité de surface, sont même partout plus élevés que chez les témoins. (Tabl. III).

Nous confirmons par cette expérience des résultats déjà publiés (BOUILLENNE, 1958-1959).

TABLEAU III

Mesures biométriques de la 3^e feuille des plantes utilisées pour le dosage des chlorophylles (moyenne de 3 mesures)

Pour la mesure des surfaces, nous considérons la feuille comme formée de 2 triangles isocèles à base commune au milieu de la feuille

		Longueur en cm.	Largeur en cm.	Surfa- ce en cm ²	Poids frais en gr.	Poids sec. en gr.	Poids sec de 100 cm ²
I.	A	22(21 à 23)	1.9(1.8 à 2)	20	0.5	0.0544	0.26
	B	25(21 à 30)	1.9(1.9 à 2.2)	23.7	0.705	0.07	0.27
	C	28(26 à 29)	2.3	32.2	0.83	0.085	0.26
II.	A	40(38 à 42)	2.2(1.8 à 2.5)	44	1.303	0.128	0.29
	B	41(33 à 50)	2 (1.5 à 2.3)	41	1.17	0.132	0.32
	C	41(37 à 45)	1.8	36.9	1.25	0.117	0.31
III.	A	23	2	23	0.61	0.07	0.29
	B	23	1.85	20.7	0.57	0.07	0.33
	C	27	2 (1.8 à 2.1)	27	0.77	0.079	0.28

Résultats des dosages en chlorophylle (feuilles prélevées entre 9 et 10 heures).

1. Dans les feuilles des plantes n'ayant pas reçu de sels minéraux (lots A. de chaque série) (Tableau IV).

a) partie basale :

Le résultat est évident et sans conteste : pour 100 mgr. de chlorophylles dans le témoin, il y a de 30 à 40 % en moins dans les feuilles traitées à l'acide gibbérellique tandis que dans les plantes traitées à l'A.I.A., il n'y a aucune variation par rapport aux témoins. Mais la surface des feuilles traitées à la gibbérelline est environ le double des feuilles traitées à l'eau ou à l'A.I.A.

Calculons les quantités de chlorophylles par demi-surface par

TABLEAU IV

*Évaluation des quantités de chlorophylles en mgr. dans 100 cm²
de la partie basale des feuilles*

Séries	I A eau	II A gibbérelline	III A A I A
Chlorophylle a	0.628	0.373	0.621
Chlorophylle b	0.122	0.084	0.129
Chlorophylle totale	0.750	0.457	0.750

rapport à la partie basale des feuilles que nous considérons comme égale à la moitié de la surface totale des feuilles. Nous aurons : (le Tableau V)

TABLEAU V

*Évaluation de la quantité totale de chlorophylles en mgr.,
dans la partie basale des feuilles*

Traitement	$\frac{1}{2}$ surface de feuille	Teneurs en chlorophylles		
		a	b	total
Eau	10 cm ²	0.063	0.0122	0.075
Acide gibbérannique	22 cm ²	0.07	0.018	0.088
AIA	11 cm ²	0.068	0.014	0.082

Si cette évaluation de la partie basale des feuilles est correcte, on peut conclure de ces dosages que l'action de la gibbérelline n'est pas dans le sens d'une destruction de la chlorophylle existante ou d'une inhibition de synthèse de nouvelle chlorophylle mais simplement une *dispersion des chloroplastes* sur une plus grande surface.

b) partie distale :

Les teneurs en chlorophylles sont très différentes de celles obtenues pour la partie basale : il y a plus de chlorophylle par unité de surface et ce dans les 3 séries (Tableau VI)

TABLEAU VI

*Évaluation des quantités de chlorophylles, en mgr.,
dans 100 cm² de la partie distale des feuilles*

Séries	I A eau	II A gibbérelline	III A A I A
Chlorophylle a	1.173	0.840	1.116
Chlorophylle b	0.213	0.168	0.234
Chlorophylle totale	1.386	1.008	1.350

Dans les plantes traitées à l'acide gibbérannique, les parties distales des feuilles contiennent aussi moins de chlorophylles que les feuilles des plantes non traitées ou traitées à l'A.I.A. mais dans ce cas, l'écart est beaucoup moindre par rapport à 100 mgr. de chlorophylles dans les témoins (20 à 28 % au lieu de 30 à 40 %).

2. Dans les feuilles ayant reçu une solution nutritive minérale par arrosage du sol (I.B) ou par vaporisation des feuilles (I.C)

a) partie basale :

Les teneurs en chlorophylle de 100 cm² des parties basales sont très voisines dans les différentes séries (Tableau VII).

TABLEAU VII

*Évaluation des quantités de chlorophylles en mgr dans 100 cm²
de la partie basale des feuilles*

Séries Traitements	IB et IC eau + sels minéraux		IIB et IIC ac. gibbér. + sels minéraux		IIIB et IIIC AIA + sels minéraux	
Chlorophylle a	0.457	0.418	0.447	0.654	0.454	0.535
Chlorophylle b	0.082	0.115	0.090	0.109	0.077	0.104
Chlorophylle totale	0.539	0.583	0.537	0.763	0.531	0.639

On ne peut ici déceler de différence significative dans les teneurs en chlorophylles, exception faite du cas des feuilles traitées par acide gibbérannique et sels minéraux (IIC), ce qui mérite une vérifi-

cation soigneuse. Il faut, d'ailleurs, remarquer que, dans ce cas, la surface totale des feuilles était moins élevée.

Si nous faisons le calcul nécessaire pour avoir une idée de la quantité de chlorophylles contenue dans la $\frac{1}{2}$ feuille basale, nous aurons le Tableau VIII

TABLEAU VIII

*Évaluation des quantités de chlorophylles en mgr
dans la surface basale des feuilles*

Traitements	$\frac{1}{2}$ surface basale de feuille	chlorophylles		
		a	b	total
eau				
+ sels minéraux				
I. B	12 cm ²	0.054	0.0092	0.065
C	16 cm ²	0.067	0.018	0.085
ac. gibbérellique				
+ sels minéraux				
II. B	20 cm ²	0.089	0.018	0.110
C	18 cm ²	0.117	0.019	0.136
AIA				
+ sels minéraux				
III. B	10 cm ²	0.046	0.008	0.054
C	13 cm ²	0.0689	0.0135	0.082

Il semble que le fait d'avoir fait agir la gibbérelline en présence de sels minéraux dans le sol ou par vaporisation, a permis la formation dans la partie basale des feuilles, d'une quantité de chlorophylle supérieure à celle que l'on trouve en l'absence de sels minéraux. Ceux-ci apparaissent donc comme facteurs limitants dans le métabolisme chlorophyllien coïncidant avec les phénomènes de croissance produits par la gibbérelline. Si cette constatation devait se vérifier, il serait raisonnable d'admettre que la chlorose dans les parties basales des feuilles de Maïs traitées par la gibbérelline est due non seulement à une dispersion des chloroplastes sur une plus grande surface cellulaire mais aussi à un défaut de nutrition minérale.

B. partie distale.

Les teneurs en chlorophylle des parties distales des feuilles traitées

ou non traitées n'apportent pas des résultats susceptibles de discussion.

CONCLUSIONS

Des expériences faites sur *Zea Maïs* (variété « Spancross ») ou variété naine (Dr. Phinney), nous pouvons conclure :

1. Les feuilles de Maïs normaux ou nains qui réagissent fortement à la gibbérelline sont chlorotiques particulièrement dans les parties jeunes.

2. Les feuilles de Maïs nains qui ne réagissent pas à l'acide gibbérellique par une croissance considérable, ne manifestent pas de chlorose.

3. L'acide gibbérellique en concentration faible (0.010 gr. %) n'a pas d'action sur le métabolisme chlorophyllien.

4. La présence d'une nutrition minérale abondante (particulièrement riche en sels de Mg) autour des plantes qui réagissent à l'acide gibbérellique diminue considérablement la chlorose. Les deux facteurs, nutrition minérale insuffisante et dilution des pigments, jouent un rôle dans la chlorose.

5. L'A.I.A. en concentration faible (0.02 %) n'a aucune action ni sur la *croissance* ni sur les *teneurs en chlorophylles* des feuilles de Maïs et, en cela, il se différencie nettement de l'acide gibbérellique.

* * *

Nous remercions M^{me} J. El Tannir-Lomba, Ingénieur-technique, et M. G. Sylvestre, Préparateur-technicien, qui ont collaboré à la réalisation du présent travail.

* * *

Addendum : Après la rédaction et la présentation de ce travail, nous avons eu connaissance d'une récente étude de T. WOLF et A. H. HABER (1960) sur le contenu en chlorophylle de germinations de Froment traitées à la gibbérelline.

Les conclusions de ces auteurs concordent remarquablement avec nos propres résultats. Nous les reproduisons ci-après :

« These results demonstrate that (a) chlorosis does not

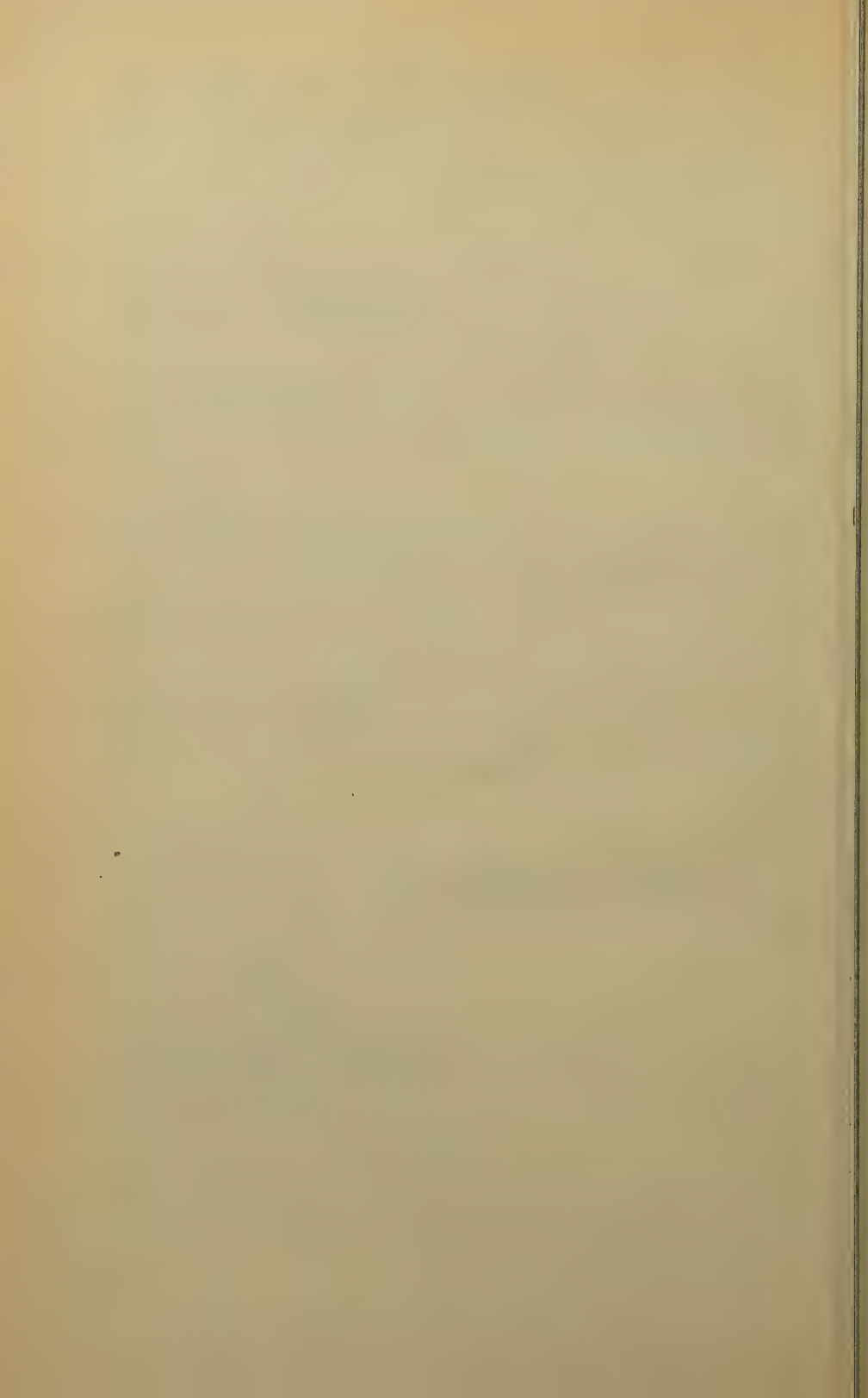
necessarily accompany growth stimulated by gibberellic acid and (b) the paling in very young seedlings results solely from a failure of chlorophyll synthesis to keep pace with the increased cell expansion ».

BIBLIOGRAPHIE

- BRIAN P. W. : Effects of gibberellins on plant growth and development. *Biolog. Rev. (Cambridge Philosoph)* **34**, 37-85, 1958.
- BOUILLENNE-WALRAND M. : Les gibbérellines, facteurs auxiniques chez les plantes supérieures. *Sté Royale des Sc. de Liège*, n° 9-10, pp. 227-246, 1958.
- BOUILLENNE-WALRAND M. : Les gibbérellines, facteurs de croissance chez les végétaux supérieurs. *Bull. Sté Roy. des Sc. de Liège*, n° 1-2, pp. 21-28, 1959.
- BOUILLENNE-WALRAND M. : Action des gibbérellines sur la croissance et la floraison des végétaux supérieurs. Relation avec l'acide β indol-acétique. Overdruk uit *Mededelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent*, deel XXIV, n° 3-4, 1959.
- CHOUARD P. : Les gibbérellines nouveaux facteurs de croissance des plantes à fleurs. *Revue Horticole* **2.222**, 1793-1805, 1958.
- MACKINNEY : *Jl. Biol. Chem.* **132**, 91, 1940. Cité dans K. PEACH et M. V. TRACEY, *Modern methods of Plans Analysis* IV. Springer-Verlag. Berlin 1955.
- STOWE. B. et T. YAMAKI : Gibberellins stimulants of plant growth. *Sciences* **129** (3352), 807-816, 1959.
- ZSCHEILE et COMAR, 1941, cité dans Rabinovitch : Photosynthesis and related Processes **II**, p. 605, 1951. *Interscience Publishers Inc.*, New-York.
- WOLF T. et HABER A. H. : Chlorophyll content of Gilberellen treated wheat seedlings. *Nature* **186**. Avril (4720) p. 217.218 ; 1960.

Institut de Botanique de l'Université
de Liège
et Centre de Recherches des Hormones
Végétales (I. R. S. I. A.)
3, rue Fusch, Liège.
Recherches subsidiées par l'I. R. S. I. A.

Liège, le 5 mai 1960.



RAPPORTS EXISTANT ENTRE L'A.I.A. LIBRE ET LA MISE A FLEURS CHEZ HYOSCYAMUS NIGER L.

par M^{me} M. BOUILLENNE-WALRAND, M^{me} M. PACQUE-GILSON
et RAY. BOUILLENNE (*)

Dans une note précédente (**), l'un de nous a étudié l'évolution de la teneur en A.I.A. (***) des feuilles de plantes d'*Hyoscyamus niger* L, cultivées en Phytotron à partir de semis, respectivement en 16 heures et en 8 heures de lumière quotidienne.

On sait qu'*Hyoscyamus niger* ne fleurit qu'en jours longs. Les plantes, recevant 8 heures de lumière par jour, restent végétatives et leurs feuilles sont disposées en rosette.

Il a été précisé que les plantes placées en 16 heures de lumière, toutes les autres conditions extérieures étant les mêmes, se comportent pendant une quarantaine de jours de la même façon que celles placées en 8 heures de lumière non seulement au point de vue morphologique mais aussi à celui de la croissance. Elles présentent ensuite des remaniements biochimiques internes au cours d'une période de maturation qui prépare la floraison.

Cette période d'induction florale dure une vingtaine de jours mais ne se marque pas dans la morphologie de la plante. Elle peut être cependant déterminée par la technique des transferts qui nous a permis de fixer exactement que c'est à partir du 40^e jour, en jours longs, que se réalisent les phénomènes d'induction florale et que ceux-ci sont achevés 20 jours après.

Au 60^e jour, le centre de la rosette présente une courte hampe florale qui s'allonge ultérieurement. Les boutons floraux apparaissent en grappe à partir du 80^e jour.

Les teneurs en A.I.A. — total, lié ou libre — obtenues par les analyses des feuilles lorsqu'elles sont jeunes, adultes et vieilles

(*) Manuscrit reçu le 12 mai 1960.

(**) M. GILSON : *Bul. Clas. des Sc. Acad. Roy. Belg.*, 5^e série, t. XLIII, 10, 1957.

(***) A. I. A. : Acide β indol-acétique.

teneur en A.I.A. : en 16 heures et en 8 heures, à partir du semis, la quantité d'A.I.A., qui est élevée au départ, diminue progressivement ; il y a peu d'auxine dans les feuilles de part et d'autre jusqu'au 60^e jour. Ainsi la période d'induction florale en 16 heures a lieu entre le 40^e et le 60^e jour, dans conditions de teneur faible en A.I.A., identique à celle des plantes de jours courts.

En 16 heures, pendant la montée de la hampe florale, il y a beaucoup d'auxine dans les feuilles ; pendant la floraison proprement dite, la concentration diminue. Enfin, au moment de la fructification il y a accumulation d'A.I.A. dans les bractées.

En 8 heures, après le 60^e jour, la concentration s'accroît régulièrement dans les feuilles suivant une courbe très simple.

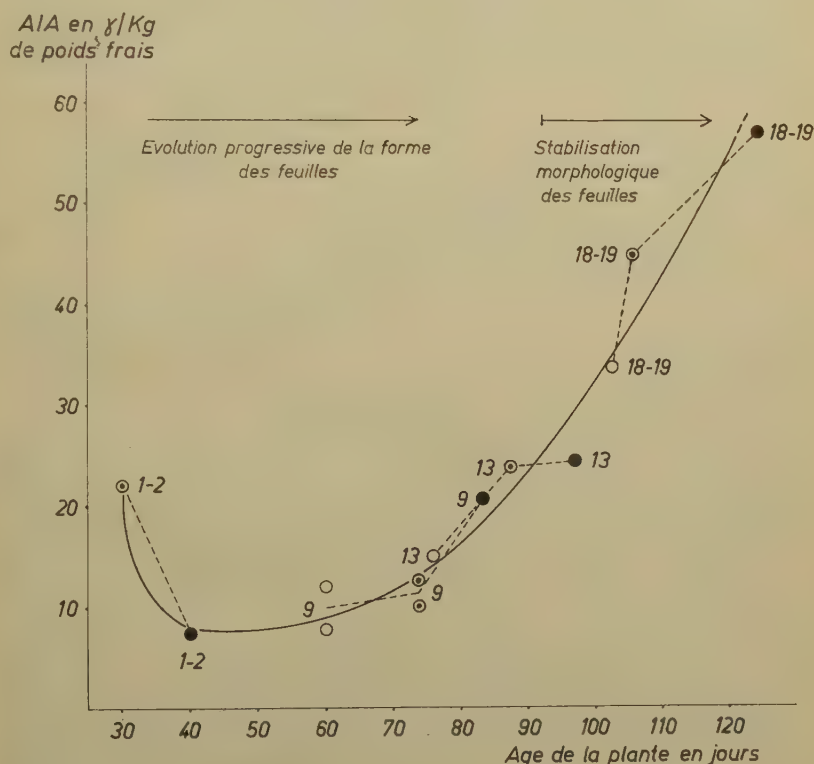


Fig. II. — AIA total en 8 heures : serre

- Feuilles jeunes 1-2-9-13-18-19.
- ◐ Feuilles adultes 1-2-9-13-18-19.
- Feuilles vieilles 1-2-9-13-18-19.

Nous reproduisons en Figures I, II, III et IV les résultats des dosages d'A.I.A. total et libre dans les feuilles jeunes, adultes et vieilles de plantes cultivées en serre conditionnée (Phytotron, 20° constant — 80 % d'humidité relative et en 16 ou 8 heures de lumière quotidienne).

La conclusion de ces expériences a été :

1) que les teneurs élevées en A.I.A. des plantes de jours longs au moment de la poussée de l'axe floral sont *un résultat* de l'induction florale réalisée précédemment en basses concentrations et non une cause de celle-ci, ainsi que le supposaient certains auteurs ;

2) que les teneurs en A.I.A. élevées observées en 8 heures dans les plantes végétatives âgées ne correspondent à aucune induction florale puisque ces plantes ne fleurissent pas.

On remarquera, en analysant les différents points des diagrammes, que le métabolisme auxinique total des feuilles varie non seulement

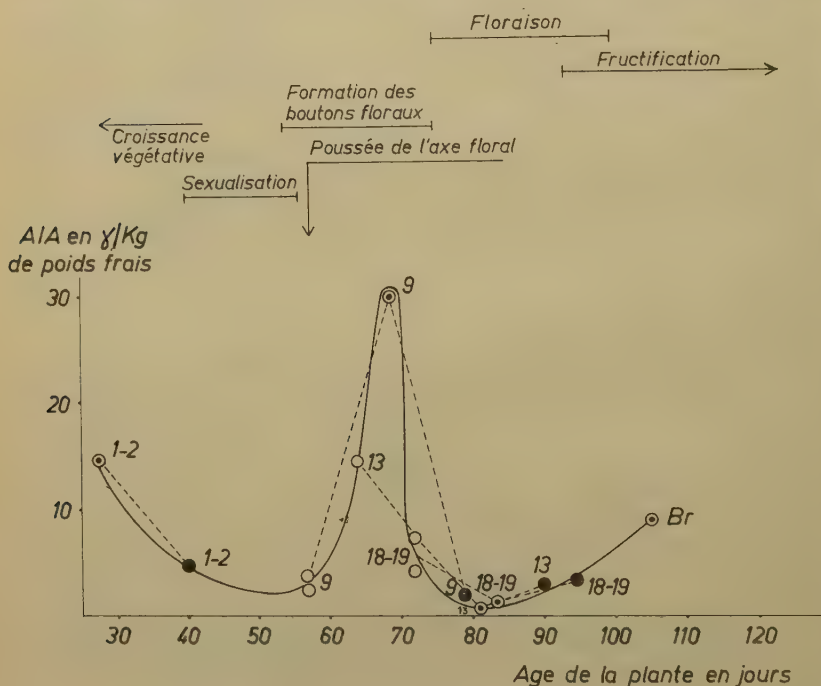


Fig. III. — AIA libre en 16 heures : serre

○ Feuilles jeunes 1-2-9-13-18-19.

○ Feuilles adultes 1-2-9-13-18-19 — Bractées adultes, Br.

● Feuilles vieilles 1-2-9-13-18-19.

avec leur numéro d'ordre mais aussi avec leur âge. Par exemple, la feuille n° 9 de plantes cultivées en jours longs présente un *maximum* d'auxine totale à l'âge adulte, tandis que la feuille 13 a son *maximum* à l'état jeune et son *minimum* à l'âge adulte, si bien que l'évolution des auxines dans les feuilles paraît dépendre de l'âge physiologique de la plante plutôt que de l'âge chronologique de ces mêmes feuilles.

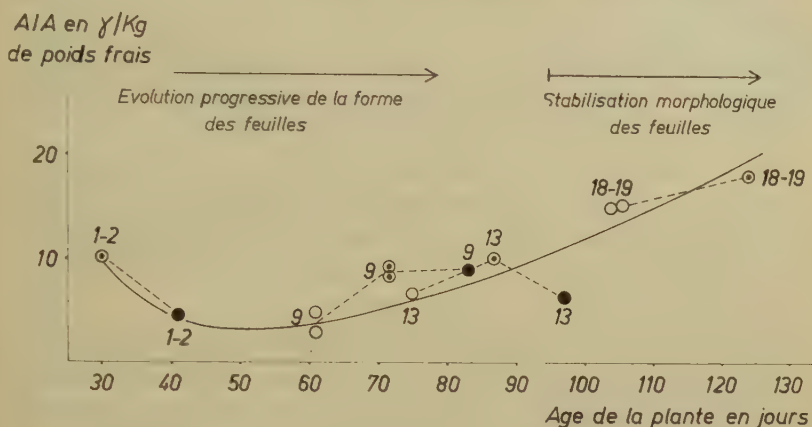


Fig. IV. — AIA libre en 8 heures : serre

- Feuilles jeunes 1-2-9-13-18-19.
- ◐ Feuilles adultes 1-2-9-13-18-19.
- Feuilles vieilles 1-2-9-13-18-19.

Dans l'expérience que nous rapportons ici, nous avons cherché à savoir quel serait le comportement de plantes âgées de *Hyoscyamus niger*, maintenues depuis le semis, pendant 92 jours, en 8 heures de jour, si elles étaient transférées en 16 heures de jour. Elles se trouvent donc au départ, dans un état nettement végétatif et elles ont un contenu élevé en auxines total et libre.

Nous espérons ainsi pouvoir répondre à la question de savoir si, dans ce cas, l'induction florale est caractérisée par une teneur en A.I.A. basse analogue à celle trouvée dans les plantes jeunes et si l'évolution de la teneur en auxine est réellement liée à des phénomènes de croissance, comme l'allongement de l'axe.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Pour réaliser cette expérience, des plantes d'*Hyoscyamus niger* ont été cultivées jusqu'à l'âge de 92 jours en photopériode courte, dans une serre du Phytotron ; elles sont ensuite transférées en photopériode de 16 heures, sous le même climat.

Ces plantes ont la lumière du jour normal des mois de janvier, février, mars, additionnée d'une lumière artificielle d'appoint (tubes « Phytor C.R.H.Lg. ») nécessaire pour obtenir 4-5.000 Lux pendant la période d'éclairement. La température est de 20° constant ; l'humidité atmosphérique relative de 80 %.

Nous avons constaté qu'il faut une vingtaine de photopériodes longues pour amener l'induction florale et dix jours de plus pour que la hampe florale apparaisse au centre de la rosette ; la montée de l'axe de l'inflorescence et la floraison se réalisent ensuite, 5 à 10 jours plus tard.

Des dosages d'A.I.A., total et libre, sont faits dans les feuilles environ tous les 7 jours, depuis le jour du transfert jusqu'à la poussée de la hampe florale, c'est-à-dire 34 jours plus tard. Ces dosages sont réalisés après ségrégation chromatographique des extraits (BRONCHART, 1957).

Les valeurs d'A.I.A. *total* dans les feuilles des plantes de 8 heures sont en moyenne 24.1 γ / Kg. de poids frais au départ de l'expérience. Pendant les 20 premiers jours de transfert en 16 heures, correspondant à la période d'induction florale, les résultats obtenus restent pratiquement les mêmes ; mais dès le 27^e jour, ces valeurs augmentent considérablement pour atteindre une valeur maximum de 81.9 γ au début de la poussée de la hampe florale (voir Tableau I).

Quant à l'A.I.A. *libre* dans les feuilles, de ces mêmes plantes, sa concentration passe d'une valeur relativement élevée (16.5 γ) à des valeurs très faibles (6 γ et 1.9 γ) au moment de l'induction pour augmenter à nouveau considérablement au moment de la poussée de la hampe florale (50 γ) (voir Tableau I).

La diminution dans la teneur en A.I.A. libre au moment de la maturation est inattendue ; elle a été cependant confirmée par deux séries d'expériences sur plantes cultivées entièrement à la lumière artificielle des tubes « Phytor C. R. H. Lg. » en chambre conditionnée.

Dans l'une de ces séries, les plantes ont été transférées de 8 heures

en 16 heures à l'âge de 75 jours ; dans l'autre à l'âge de 95 jours. Toutes ces plantes avaient au départ des teneurs en A.I.A. libre plus faibles que celles observées dans les plantes cultivées en serre à la lumière naturelle (les autres conditions de culture étant identiques). Nous avons déjà observé ce fait au cours d'autres expériences non publiées sur *Hyoscyamus niger*.

Au 14^e jour, dans les deux séries, les valeurs d'A.I.A. libre ont diminué fortement. Les chiffres nous apportent une vérification de ceux obtenus en serre : la concentration de l'A.I.A. libre décroît au moment de l'induction florale (1.9 à 3 γ par Kg. de poids frais) (voir Tableau II et Fig. V).

γ ‰ en
auxine libre

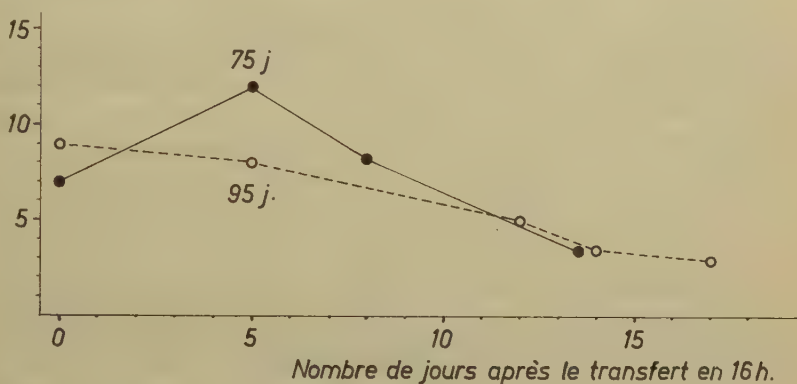


Fig. V

Teneur en auxine libre (AIA) de feuilles d'*Hyoscyamus niger* L. cultivés respectivement 75 et 95 jours en photopériodes de 8 h. (et n'ayant jamais fleuri) puis transférés en photopériodes de 16 h.

DISCUSSION

1. A.I.A. total :

Il ne paraît pas y avoir, chez *Hyoscyamus niger* de relation directe entre l'induction de floraison et les teneurs en A.I.A. total : lorsque cette plante est cultivée toute sa vie en 16 heures et par conséquent est relativement jeune au moment où se réalise cette phase, la teneur en A.I.A. total est faible (7.5 γ /Kg.) ; elle est la

TABLEAU I

Dosages d'A.I.A. total et libre dans les feuilles d'Hyoscyamus niger, cultivés en Phytotron en 8 heures de jour, puis transférés en 16 heures de jour à l'âge de 92 jours (A.I.A. en γ par Kilog. poids frais).

Nombre de jours à partir du trans- fert en 16 heures	Témoins maintenus (A.I.A.) en 8 heures de jours		Transférés en 16 heures (A.I.A.)	
	total	libre	total	libre
0	23.2	15.2	24.1	16.5
8	23.7	14.3	27.9	
13	20.6	15.3	22.7	13.1
20			24.2	6
27			57.9	1.9
32	25.2	17.6	63.1	47.3
(hampe au centre de la rosette)				
34			81.9	50
(poussée de la hampe).				

TABLEAU II

Dosage d'A.I.A. endogène, libre, dans les feuilles d'Hyoscyamus niger, cultivés en Phytotron, en 8 heures de jour (lumière artificielle-Phytor C. R. H. Lg., 4.500 Lux) puis transférés en 16 heures de jour (même éclairage) à l'âge de 75 ou de 95 jours (A.I.A. γ par Kilog. poids frais)

Nombre de jours à partir du transfert en 16 heures	Évolution de A.I.A. libre dans les feuilles	
	Plantes âgées de 75 jours	plantes âgées de 95 jours
0	7.1	9.0
5	12.0	8.0
8	8.3	—
12	—	5.0
14	3.3	3.3
17	—	3.0

même que celle des tissus des plantes végétatives du même âge physiologique cultivées en 8 heures continuellement (Fig. I et II).

Les plantes, cultivées depuis longtemps en 8 heures et mises ensuite en 16 heures, ne montrent pas de changement dans la teneur en A.I.A. total qu'elles ont atteinte précédemment dans leurs feuilles. Dans la période d'induction florale, la concentration reste élevée : elle est la même que dans les plantes végétatives du même âge maintenues en 8 heures ; elle évolue aux environs de 20 à 25 γ par Kg. Mais après une vingtaine de jours, en 16 heures, les concentrations augmentent brusquement, atteignant une valeur très élevée. Ce phénomène se présente au début de la montée de l'axe floral. Nous avons obtenu ce même phénomène d'augmentation de concentration sur les plantes de semis ayant subi l'induction florale.

Ainsi donc :

a) Il n'y a pas de concentration *spécifique* d'A.I.A. total au moment de l'induction florale chez *Hyoscyamus niger*. L'A.I.A. total ne semble pas faire partie d'un complexe de substances particulier (specific metabolites), rigoureusement équilibré (comme, par exemple, les chlorophylles a et b, les vitamines E et K), nécessaire à la maturation des méristèmes. Quelle que soit la concentration d'A.I.A. total, faible (7,5 γ) ou élevée (24 γ), *Hyoscyamus niger* arrive à fleurir en longs jours après une période de 20 jours.

b) L'élévation de la teneur en A.I.A. des tissus au moment de la poussée de la hampe florale apparaît comme la conséquence de la maturation ; elle constitue une étape particulière se réalisant à partir d'un niveau de concentration en A.I.A. total qui peut être bas ou élevé.

2. A.I.A. libre :

Si on envisage l'évolution de la teneur en A.I.A. libre, qui est en réalité la forme active circulante dans les plantes transférées de 8 heures en 16 heures, il semble qu'on doive lui accorder une grande importance.

Lors de nos premiers travaux, qui concernaient des plantes de semis, nous avons montré que la teneur en A. I. A. libre, au moment de l'induction florale en 16 heures est identique à celle des plantes de 8 heures du même âge, qui ne se sexualisent pas, et que cette teneur est faible (de 4.62 γ au 40^e jour à 3 γ au 57^e jour, Fig. III).

Nous constatons à présent, que les plantes cultivées en 8 heures,

pendant longtemps et qui sont vieilles, relativement riches en A.I.A. libre, puis transférées en 16 heures, manifestent également une teneur faible en A.I.A. libre au moment de l'induction florale alors que les plantes témoins, maintenues en 8 heures, conservent ou augmentent même encore légèrement leur contenu auxinique libre. Ceci est vrai, quelle que soit la série de plantes envisagée : que la lumière soit naturelle ou artificielle.

Il semble donc, d'après ces résultats, qu'il existe dans les feuilles une concentration d'A.I.A. libre, qui est caractéristique de la période de sexualisation chez *Hyoscyamus niger* et que cette concentration est faible. En effet, quand les plantes obtenues sont de semis, jeunes, elles possèdent peu d'A.I.A. libre ($\pm 3 \gamma/\text{Kg.}$) et ne présentent aucune variation dans leur contenu auxinique libre, qu'elles se sexualisent en 16 heures ou qu'elles restent végétatives en 8 heures. Quand, au contraire, les plantes maintenues végétatives sont vieilles, elles sont riches en A.I.A. libre et total ; elles manifestent une diminution très nette du contenu auxinique libre (1,9 à $3 \gamma/\text{Kg.}$) au moment où elles subissent l'induction florale.

Dans ce cas, on pourrait interpréter de deux manières le fait de la teneur basse en auxine libre coïncidant avec une haute teneur en auxine totale.

Ou bien, il n'y a pas de libération d'A.I.A. libre à partir de la réserve d'A.I.A. lié parce que les enzymes de la plante, intéressés à ce phénomène, n'interviennent pas.

Ou bien, il y a libération d'A.I.A. libre à partir de la réserve d'A.I.A. lié mais l'A.I.A. libre est détruit par les mécanismes oxydasiques auxiniques.

Le second point paraît le plus vraisemblable, car LONA (1955) a déjà montré que l'éosine qui, à la lumière provoque l'oxydation de l'auxine, peut accroître la floraison.

En tous cas, ces résultats ne semblent pas appuyer les théories selon lesquelles les *jours longs* (chez les plantes de jours longs) permettent d'atteindre un certain niveau d'auxine nécessaire à la floraison tandis que les *jours courts* (chez ces mêmes plantes) leur donnent un niveau d'auxine qui reste trop bas.

La constatation, qu'il y a dans les feuilles très peu ou pratiquement pas d'A.I.A. libre pendant la période d'induction florale, s'accorde avec les nombreux résultats montrant d'une part, que, pendant la période inductive, un traitement externe par A.I.A. inhibe la floraison, comme cela a été démontré dans *Xanthium*,

traité par A.I.A. ou N.A.A. (THURLOW et BONNER, 1947) et *Kalanchoe blossfeldiana* (HARDER et VAN SENDEN, 1949), et en général dans beaucoup de plantes de jours courts et que d'autre part, après cette période, une application d'auxine extérieure aide et hâte l'épanouissement floral.

Nous pouvons, en tous cas, conclure de ces expériences que :

La floraison d'*Hyoscyamus niger* en longs jours se produit chez des plantes qui ont :

1. une teneur en A.I.A. totale, qu'elle soit faible ou élevée ;
2. une teneur d'A.I.A. libre très faible, que les plantes soient jeunes (de semis) ou vieilles (provenant de plantes cultivées en jours courts pendant longtemps et ayant une teneur en A.I.A. total élevée).

BIBLIOGRAPHIE

(1) BOUILLENNE-WALRAND M. : Les gibbérellines, facteurs de croissance chez les végétaux supérieurs. *Bull. Soc. Roy. Sciences*, Liège, 28^e année, 1-2, pp. 21-28 (1959).

(2) BRONCHART R. : Recherches sur le dosage des auxines. *Bull. Soc. Roy. Sciences*, Liège, 26^e année, 5, pp. 241-252 (1957).

(3) GILSON M. : Évolution quantitative de l'acide β indol-acétique chez *Hyoscyamus niger* L., en rapport avec la sexualisation et la floraison. *Bull. Classe des Sciences, Acad. Roy. Belg.*, 5^e série, t. XLIII, pp. 778-798 (1957).

(4) THURLOW et BONNER : Inhibition of photoperiodic induction in *Xanthium*. *Am. Journ. of Bot.* **34**, 603-604 (1947).

(5) HARDER et VAN SENDEN : Antagonistische Wirkung von Wuchsstoff und Blumhormon. *Naturwissenschaft*, **36** (11) 348 (1949).

(6) LONA F. et BOCCI A. : *Beitr. Biol. Pflanz.* **31**, 333 à 347, (1955).

Institut de Botanique de l'Université
de Liège

et Centre de Recherches des Hormones
Végétales (I. R. S. I. A.)

3, rue Fusch, Liège.

Recherches subsidiées par l'I. R. S. I. A.
Liège, le 10 mai 1960.



M. Bouillenne-Walrand et R. Bouillenne. — Sur l'isolement et les propriétés d'un nouveau complexe amylolytique puissant l'*Eminiase*, extrait de *Eminia* sp.

Parmi les diverses bières que fabriquent les habitants du Katanga, il en existe une qui porte le nom de bière de *munkoyo*. Faite avec des pâtes amylacées de provenances diverses : sorgho, maïs, manioc, etc., elle doit son nom à ce que la fermentation en est réalisée par l'introduction, dans la pâte, de fragments de racines de plantes appartenant au genre *Eminia* que les indigènes appellent *munkoyo* (Lg. Papil.).

A Mwadingusha, où l'un de nous a séjourné en novembre 1958, on avait apporté trois sortes de *munkoyo* :

1. — Le *Mulaba Munkoyo* possédant de grosses racines allongées à chair blanc-jaunâtre, vraisemblablement *Eminia polyadenia* HAUMAN.

2. — Le *Kilunge Munkoyo* (ou *Kilunga Munkoyo*) plante très petite à peine ligneuse dont les racines sont minces, à chair jaunâtre (*Eminia intermedia* ?).

3. — Le *Kitondo Munkoyo* récolté à Kiembe et à racines épaisses (*Eminia Harmsiana* DE WILD).

Le *Muluba Munkoyo* est un arbrisseau d'environ 1 m à 1,50 m de hauteur ; ses racines font l'objet d'un commerce extrêmement actif dont un marché important est le village de Pande, où nous avons vu charger sur de lourds camions des centaines de ballots.

Depuis 1957, notre attention s'était portée sur le *munkoyo*.

Au cours du voyage de la première mission FULRÉAC au Katanga (1957), R. BOUILLENNE avait observé dans le village de Saja, la préparation de la racine de *munkoyo* et suivi de près l'utilisation de celle-ci : des fragments de racines martelées sont enfoncés dans la pâte amylacée chaude destinée à la fabrication de la bière (voir *photos* 1, 2 et 3). Après très peu de temps, la pâte devient liquide. Ce liquide encore chaud est transvasé dans des récipients qui sont placés ensuite à l'ombre dans une case jusqu'au moment de la consommation.

G. BERNIER, lors de la mission qu'il a effectuée au Katanga au cours des années 1957-1958, a ramené des renseignements fort semblables et insiste aussi sur le fait que les racines sont introduites dans une bouillie amylacée *chaude*.

On trouve dans la littérature peu de renseignements précis sur le rôle de la racine de *munkoyo* ajoutée à la pâte amylacée.

Mad. BOUILLENNE a vu préparer du *munkoyo* à Mwadingusha : les femmes font d'abord une bouillie de farine de manioc : dans un récipient contenant de l'eau *en ébullition*, elles versent un mélange de farine de manioc et d'eau froide ; elles maintiennent le feu en mélangeant continuellement jusqu'à ce que les bulles d'air viennent crever en grand nombre et que la bouillie soit épaissie. (Il s'agit donc bien d'un *empois d'amidon* comportant environ 4 kg de farine de manioc pour 10 litres d'eau). Elles versent ensuite la bouillie chaude dans un grand bassin et y introduisent 4 à 5 racines (± 200 g) préalablement écorcées par battage, puis lavées et débitées en faisceaux de fibres. Elles agitent continuellement la masse.

En quelques instants (4 à 5 minutes), la bouillie devient liquide comme de l'eau. Les racines sont laissées dans le mélange pendant quelques heures, généralement

jusqu'au soir, le récipient restant ouvert, puis elles sont enlevées et le liquide sucré est transvasé de la baskine dans des récipients où il fermente 2 à 3 jours, dans un endroit couvert, généralement mal éclairé.

Si on interroge les indigènes, certains répondent que le *munkoyo* apporte le sucre, d'autres qu'il y a dans le *munkoyo* quelque chose de « coupant » qui fait la bière.

Par comparaison avec la technique de la brasserie européenne, on pourrait penser que la racine de *munkoyo* joue le rôle de la germination de l'orge (ou maltisation). Liquéfiant et saccharifiant l'amidon, le *munkoyo* transformerait celui-ci en maltose, ou en un sucre analogue ; d'autre part, des levures indigènes existant sur place produiraient d'abord le glucose (ferment maltase), puis l'alcool (zymase).

Cependant, dans un article publié en 1954 sur le *munkoyo*, A. POODT, dit :

« ...bien que l'hypothèse en ait été émise, rien ne fait penser à l'action d'une enzyme de la racine. Une amylase éventuelle ne peut qu'hydrolyser l'amidon, mais non produire de l'alcool et du gaz. D'ailleurs, vu la température relativement élevée où se fait le mélange et l'infusion, elle serait détruite. La cuisson prolongée à l'eau suffit d'ailleurs à dextriniser l'amidon »

Dans le problème de la fabrication de la bière, il faut en effet distinguer trois points principaux :

1. — La nature du substrat de la fermentation (empois d'amidon d'origines diverses) ;
2. — La liquéfaction et la saccharification de l'amidon ;
3. — La fermentation du liquide sucré et sa transformation partielle en alcool.

* * *

Il nous a paru intéressant, au point de vue théorique, comme à celui, pratique, d'une éventuelle utilisation

à rendement économique réalisable aussi bien en Belgique qu'au Congo, d'élucider, tout au moins partiellement, le rôle de la racine de *munkoyo* dans la brasserie indigène et d'essayer une rapide extraction des principes actifs.

La présente note rapporte les résultats obtenus par des essais préliminaires.

Avant tout, il nous plaît de signaler l'aide bénévole que nous avons reçue de M. SEIDEL, directeur de la Centrale électrique de Mwadingusha, de M. BONÉ, directeur du Centre I.R.S.A.C. à Élisabethville, de M. et M^{me} NASSOGNE (Mission FULRÉAC à Mwadingusha). Sans l'amitié et la complaisance de ces personnes, nous n'aurions rien pu faire d'intéressant.

A. CONSIDÉRATIONS SUR LA FERMENTATION DE L'EMPOIS D'AMIDON.

I. *Le substrat de la fermentation.*

Le substrat de la fermentation alcoolique de la bière de *munkoyo* comme de toutes les bières, est évidemment l'amidon.

Schématiquement, on représente l'amidon des végétaux comme composé de 2 constituants principaux :

a) L'amylose, soluble dans l'eau chaude. La coloration bleue de l'empois d'amidon par l'iode est principalement due à l'amylose. Structuralement, l'amylose est constitué de longues chaînes droites de résidus glucosés liés en position 1-4 (liaison glucosidique *a*) intéressant de 200 à 1.000 unités de glucose [13]. *

* Les chiffres entre [] renvoient à la bibliographie en fin de la communication.

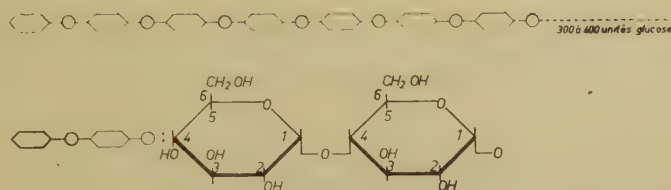


FIG. 1. — Structure de l'amylose : chaînes droites d'unités glucose, liées entre elles par les positions 1-4.

b) L'amylopectine, insoluble dans l'eau chaude, mais y formant un gel qui donne à l'empois d'amidon sa consistance. L'amylopectine est colorée en bleu-violet par l'iode. L'étude structurale de l'amylopectine a montré qu'elle est constituée de chaînes très ramifiées : sur des chaînes droites d'amylose (radicaux glucosés en liaison 1-4) sont branchées, en position 6, d'autres chaînes d'amylose, constituées d'au moins 18 à 20 unités glucose, elles-mêmes en liaison 1-4.

Un schéma simple de structure moléculaire est celui présenté par MEYER [8] : un buisson de courtes chaînes (15 à 20 unités, en liaison 1-4), séparées les unes des autres par au moins 8 unités de glucose et branchées sur le 6^{ème} carbone de la 8^{ème} unité glucose de la chaîne droite.

On aurait donc l'image moléculaire simplifiée reproduite en figure 2.

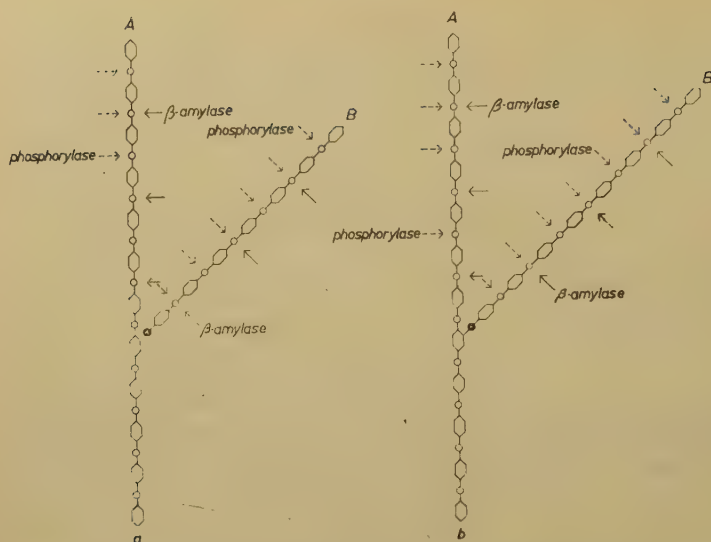


FIG. 2. — Structure simplifiée de l'amylopectine : chaînes droites d'amylose sur lesquelles sont branchées en position 6 d'un des glucoses des ramifications d'un certain nombre d'unités glucose, liées en position 1-4 ; A : nombre impair de glucoses sur la chaîne latérale ; B : nombre pair de glucoses sur la chaîne latérale ; Les flèches $\rightarrow$ indiquent l'action de la β amylase ; Les flèches $\leftarrow$ indiquent l'action de la phosphorylase (image modifiée d'après K. MEYER et al. 1952).

La longueur des chaînes latérales, de même aussi le rapport quantitatif entre amylose et amylopectine varie selon l'origine de l'amidon (*Tableau 1*) ⁽¹⁾.

Tableau I. — Rapport quantitatif entre amylose et amylopectine suivant l'origine de l'amidon.

Provenance de l'amidon	Amylose %	Amylopectine %
Banane	20,5	79,5
Pomme de terre	22	73
Patate douce	17	73
Fromnte	24	60
Maïs	22	45
Waxy Maïs	0	70
Riz	17	38

⁽¹⁾ STAUDINGER et al. proposaient une image encore plus simple.

II. Les enzymes de l'amylolyse.

Les principaux enzymes de la décomposition amylolytique qui aboutit au maltose (ou au glucose) sont :

1. — La β amylase qui brise des chaînes droites d'amylose, principales ou latérales, en groupes de deux glucoses (liaison en 1-4) et les transforme en β maltose (à 90 ou 100 %). L'amylose est donc quantitativement transformé en maltose, tandis que l'amylopectine ne l'est qu'à 50, 60 %, parce que la β amylase ne touche pas aux liaisons 1-6 des chaînes latérales et laisse un résidu de dextrines non attaquées (β dextrine) qui serait, si l'on veut, le centre de la molécule d'amidon (MEYER) ou son squelette.

La β amylase existe dans toutes ou presque toutes les graines amidonnées sèches ou les organes de réserves amy lacées. Elle est détruite à 70° C. On en a extrait de la farine d'orge, de la farine de blé, du malt, de la patate douce (*Ipomoea batatas*), etc.

Elle est fonctionnelle principalement dans le sens de la dégradation de l'amidon. Elle agit dans ce sens à peu près comme la phosphorylase (du muscle ou de la pomme de terre) En effet, cette dernière dégrade, une à une, toutes les liaisons 1-4, à partir de toutes les chaînes secondaires jusqu'au glucose formant l'embranchement 1-6. La phosphorylase attaque aussi les chaînes principales, mais, à la différence de la β amylase, elle laisse intact à partir du glucose formant l'embranchement 1-6, des restes de 3-5-6 unités glucose (en liaison 1-4) ceux-ci pouvant être dégradés plus avant par la β amylase (voir schéma figure 2).

La phosphorylase intervient dans le métabolisme amy lacé aussi bien par dégradation que par édification.

Pour la réaction glucose — amidon, la phosphorylase a besoin, comme point de départ, des résidus dextrinés

comportant : pour la phosphorylase du muscle, 4-5 ou 6 restes de glucose (starter) et pour la phosphorylase de la pomme de terre, 3 unités glucose seulement. Elle catalyse la réaction glucose — phosphate — amylose.

2. — L' α amylase qui coupe les liaisons 1-6 des branches latérales et donne des résidus de 6 à 8 unités glucose. Il semble aussi que l' α amylase attaque l'amylose.

L' α amylase apparaît dans les graines en germination ; dans la graine dormante, elle existe sous forme de complexe protidique inactif dont une légère protéolyse la libère [4].

L' α amylase résiste à la chaleur. On utilise cette propriété pour la préparer à partir de sirop de malterie : on chauffe à 70° pendant 15 minutes pour précipiter et inactiver la β amylase [11] qui l'accompagne dans le matériel d'extraction. Elle est moins soluble que la β amylase et l'addition d'agents séquestrants comme les tétra-phosphates et hexaméta-phosphates détruit son activité. De même, une dialyse prolongée contre l'eau distillée affaiblit son activité.

L' α amylase détruisant les liaisons 1-6 du glucose liquéfie l'empois d'amidon et permet à la β amylase, ou à la phosphorylase, d'effectuer de manière continue, la scission des chaînes glucosées en 1-4.

En présence d' α amylase, l'amidon perd très vite sa propriété de bleuir l'iode, tandis que la β amylase donne des résidus de dextrines correspondant à des colorations violet à rose.

L' α amylase a été retirée de l'orge germé, de bactéries, (*B. subtilis*), de la salive, du pancréas de porc, etc.

Industriellement, on la retire surtout de cultures d'une moisissure *Aspergillus orizae* (qui est cultivée au Japon depuis plus de 2.000 ans : c'est le *Koji*) pour servir à la fabrication de la bière de Saké.

Le complexe fermentaire du *Koji* est vendu sous le



Photo R. Bouillenne.

PHOTO 1. — Village de Saja (1957) : présentation des racines de *munkoyo* qui vont être martelées et introduites dans la pâte amylacée chaude en vue de la fermentation de la bière de *munkoyo* (à gauche : l'administrateur ERNEUPONT ; au centre : le Dr LAMBRECHTS).



Photo R. Bouillenne.

PHOTO 2. — Préparation de la bière de *munkoyo* (village de Saja) sur la terrasse d'une case. (A gauche : un indigène apporte des racines de *munkoyo* ; à droite : la cuve, sur le feu de bois, où la pâte amylacée est brassée jusqu'à formation d'empois).



Photo R. Bouillenne.

PHOTO 3. — Une racine de *munkoyo* martelée, pour éliminer l'écorce et obtenir les fibres. Cette opération se fait sur une pierre ou, comme ici, sur un petit banc.

nom de *Taka-diastase* ⁽¹⁾ (du nom du savant japonais TAKAMINE, qui l'a lancé sur le marché international en 1937). On utilise la *Taka-diastase* dans les industries des textiles, de la fermentation alcoolique et des médicaments.

Les α amylases d'origine végétale diffèrent peu de celles d'origine animale. Leur principale distinction tient à ce que les α amylases végétales exigent la présence de l'ion Ca^{++} tandis que les α amylases d'origine animale réclament l'ion Cl' .

L' α amylase et la β amylase présentent entre elles de nombreuses différences biochimiques dont les principales sont figurées au *tableau II*.

Tableau II. — Différences biochimiques entre l' α amylase et la β amylase.

α amylase du malt ⁽²⁾	β amylase du malt.
Soluble à 10 % dans H_2O distillée ;	Très soluble dans H_2O distillée ;
Inactivée par dialyse prolongée contre H_2O distillée ;	Non inactivée par dialyse contre H_2O distillée ;
Exige la présence d'ions Ca^{++} (amylase du malt) ;	N'exige pas la présence d'ions métalliques ;
Cl' (amylase animale) ;	
Liquéfie l'empois d'amidon ;	Ne change que peu la viscosité d'un empois d'amidon ;
N'est pas détruite à 70° ;	Est détruite à 70° (pendant 15 minutes) ;
Optimum d'action 50-60° ;	Optimum d'action 25°-45° ;
Détruite par ébullition (15 minutes) ;	Détruite par ébullition (15 minutes) ;
Ne contient pas de groupes S-H ;	Contient des groupes S-H ;
Inactivée par les séquestrants (fixation des ions Ca^{++}) : Complexon, II (acide éthylène diamine-tétracarbonique), Tétra et hexa métaphosphates ;	Non inactivée par les séquestrants, inactivée par des sels de métaux lourds (Cu, Hg en solution 0.0001 N) ;

⁽¹⁾ *Takamine Laboratories, Inc. Clifton, New-Jersey (U. S. A.)*.

⁽²⁾ Les α amylases d'origines diverses présentent aussi entre elles des différences.

Détruite en milieu acide ;	Stable en milieu acide ;
Perd son activité en dessous de pH 5 et au-dessus de pH 8 ;	Activité entre pH 4.5 et pH 9.2 ;
Optimum d'action pH 5.7 à 5.9 ;	Optimum d'action pH 4.7 à 5.5 ;
Point isoélectrique pH 5.6 ;	Point isoélectrique pH 6.1 ;
N'existe pas dans les graines non germées ; apparaît au cours de la germination ;	Existe dans les graines non germées ;

3. — En 1935, WALDSCHMIDT, LUZ et MAYER [14] ont décrit sous le nom d'« Enzyme liquéfiant » un complexe qui existe dans les graines au repos et qui possède la propriété de liquéfier très rapidement l'amidon, de libérer des *chaines de 30-40 unités* glucose, (cet enzyme libérerait les liaisons 1-4 et 1-6) qui donnent encore avec l'iode une coloration et qui sont *très peu réductrices*. Il différerait des β et α amylases par diverses caractéristiques et se rapprocherait fonctionnellement du « Q enzyme » [6] ou *Branching factor* [3].

Le « Q enzyme » scinde des longues chaines droites d'amylose (à plus de 50 unités glucose) en chaines plus courtes de pseudo-amylose (20 unités glucose environ) et les fixe en liaison 1-6 sur d'autres chaines amylosées, les ramifications étant séparées les unes des autres par 8 unités glucose. La scission de liaisons 1-4 et la synthèse des liaisons 1-6 sont interdépendantes et s'effectuent simultanément par une réaction transglucosidique [13]. Le « Q enzyme » peut donc transformer l'amylose en amylopectine (et l'inverse) sans intervention de phosphate et de phosphorylase.

Parmi les divers enzymes intervenant dans le métabolisme amylicé, deux sont particulièrement liés à la dégradation des grosses molécules : les α et β amylases. C'est à ce point de vue que l'étude du *munkoyo* nous a paru intéressante. Cependant, la rapidité exceptionnelle de la liquéfaction due au *munkoyo* présente une certaine analogie avec celle de l'action de l'enzyme liquéfiant de WALDSCHMIDT, et aussi notamment la

propriété d'agir au mieux à la température d'action 70° C.

B. EXTRACTION DES PRINCIPES AMYLOLYTIQUES ACTIFS DES RACINES DU *munkoyo*.

Nous avons réussi à extraire de la racine de *Mulaba munkoyo* (*Eminia polyadenia* HAUMAN) un complexe amylolytique de nature protéique (comme celle des amylases).

Dans le premier rapport remis au Conseil de la FUL-REAC, à notre retour de mission (3 janvier 1959), nous avons appelé *Clairase* le complexe enzymatique extrait du jus de presse des racines d'*Eminia*, mais nous nous sommes aperçu que les TAKAMINE LABORATORIES INC. fournissent sous le nom de *Clarase* 900, un complexe contenant α et β amylases, maltase, et divers sucres.

Nous proposons, dès lors, de donner le nom d'*Eminiase* au système enzymatique isolé par nous. Nous enrichissons ainsi d'une unité la liste des poly-enzymes glucidiques connus : *Taka-diastase*, *Pangestine* ⁽¹⁾ qui liquéfient et hydrolysent l'empois d'amidon.

I. Température du milieu réactionnel.

Tout d'abord, on sait que la température de formation de l'empois d'amidon varie selon l'origine de l'amidon (62° pour le froment, 72° pour le riz). La température de formation de la pâte de manioc ne dépasse pas 75°. Quand on plonge la racine nettoyée et débitée en paquets de fibres dans la bouillie, celle-ci est à une température qui varie entre 65 à 70°.

Nous avons préparé divers échantillons d'empois contenant chacun 200 g de farine de manioc pour un

⁽¹⁾ La Pangestine délivrée par le DIGESTINE FERMENT CORPORATION (Détroit, Michigan) est vraisemblablement retirée du pancréas du porc.

litre d'eau. Nous les avons maintenus à des températures respectivement de 75°, 65°, 50°, 40° C. La liquéfaction par une même quantité de *fibres de racines* est obtenue après des temps légèrement différents :

A 75° : 4 minutes ;

A 65° : 2 minutes ;

A 50° : 2 minutes 30 s à 3 minutes ;

A 40° : 6 à 7 minutes.

Mais si on fait bouillir des racines dans de l'eau pendant un quart d'heure, ni les fibres, ni le liquide d'ébullition ne sont plus capables de liquéfier l'empois d'amidon ; par contre, une très courte ébullition ne tue pas entièrement le pouvoir liquéfiant.

On peut fort bien obtenir un empois d'amidon « liquide » en ajoutant la racine au mélange froid d'amidon et d'eau, puis en amenant progressivement à la température de formation de l'empois. Le mélange reste parfaitement liquide : le ferment liquéfiant l'empois agit à peu près instantanément au fur et à mesure que celui-ci se forme ; la température critique à laquelle l'enzyme est inactivé n'est atteinte qu'au delà de 80° C. ; nous avons plusieurs fois vérifié ce fait ; d'ailleurs, certains opérateurs indigènes font de même en mélangeant avant de chauffer, racines, farine de manioc et eau ; dans l'industrie européenne et pour faciliter la manipulation de grandes quantités de pâtes amylacées, on ajoute une certaine quantité de malt ou d' α amylase au mélange en voie de cuisson.

L'argument employé par POODT [10], que la chaleur ne détruit pas le complexe liquéfiant est donc sans valeur. On connaît d'ailleurs [9, 2] des complexes protidiques qui résistent à une ébullition de plusieurs minutes mais qui perdent leur activité après une ébullition prolongée.

Il ressort de cette simple expérience que le *munkoyo*

se comporte comme s'il contenait un ou des enzymes ayant principalement une constitution de protéine. Le fait que l'activité résiste à la température de 70° pendant plus de 15 minutes semble exclure la présence de β amylase.

II. Réaction du milieu.

Le jus extrait par pression des racines d'*Eminia* a un pH de 6,2. Si on fait bouillir les racines dans l'eau distillée qui a un pH initial de 5,6, celui-ci est amené à 6-6,1.

Dans l'eau de la distribution de Mwadingusha qui a un pH de 6,8, la macération des racines à froid ou à chaud, donne un pH de 6,5. La conclusion de cet essai est que le jus cellulaire de la racine n'est pas très acide et qu'il n'y a, ni à froid, ni à chaud, libération d'acides dans l'eau de macération des racines.

Ce n'est donc pas à une éventuelle action d'acides qu'est due la liquéfaction de l'empois d'amidon de manioc.

III. Solubilité du complexe amylolytique.

Si on exprime le jus de la racine, ou si on extrait la racine par de l'eau à 50° C., le liquide obtenu possède toutes les propriétés liquéfiantes de la racine entière. Le complexe amylolytique de *munkoyo* est donc soluble dans l'eau.

Les fibres pressées et débarrassées de leur jus, ou extraites par l'eau, conservent cependant une partie de leur valeur liquéfiante. Notre extraction n'a évidemment pas été totale.

IV. Réaction au Lugol.

La bouillie amyglacée de manioc donne une coloration bleue-noire par l'iode. Cette coloration, au fur et à

mesure qu'agit la racine, vire au violet puis au rouge violacé ou rouge.

Si on filtre grossièrement le mélange, le filtrat ne donne à peu près plus de coloration.

Il semble donc que, après une heure de contact avec la racine de *munkoyo*, la maltisation de l'amidon soit réalisée ou tout au moins la scission de celui-ci en très petites chaines glucosées ne réagissant plus au Lugol.

V. Détermination quantitative des sucres réducteurs provenant de la racine de *munkoyo*.

Cette expérience est faite pour vérifier l'affirmation des indigènes disant que le *munkoyo* apporte le sucre.

Deux échantillons de 10 g de racine sont mis à macérer respectivement :

1. — Dans 100 cm³ eau bouillante et ébullition 10 minutes ;

2. — Dans 100 cm³ eau froide pendant 3 heures (pour une éventuelle hydrolyse d'amidon cru).

Dans le 1^{er} cas, les ferments sont tués.

Dans le 2^{me} cas, ils ne sont pas tués et peuvent hydrolyser éventuellement des holosides présents dans la racine.

Les chiffres obtenus par un dosage approximatif à la liqueur de FEHLING donnent respectivement 1,3 g et 1,2 g de réducteurs calculés en glucose pour 100 g de racines.

La racine contient donc à l'état naturel des sucres réducteurs. Elle contient aussi un peu d'amidon. Celui-ci n'a pas été hydrolysé, peut être parce qu'il n'a pas, en série 2, été transformé en empois, et que, en série 1, il était sous forme d'empois, mais le ferment était tué.

VI. Détermination quantitative des sucres réducteurs provenant d'empois d'amidon traité par la racine de *munkoyo*.

3 g d'amidon REMY ordinaire sont transformés en

empois et amenés à 200 cm³. On répartit cet empois en portions de 25 cm³ qui sont traités de diverses manières :

1. — 25 cm³ + 5 cm³ H₂SO₄ à 25 %, hydrolysé 3 heures à chaud ;

2. — 25 cm³ + 5 g *munkoyo*, maintenu à 45° pendant 30 min ;

3. — 25 cm³ amené à ébullition + 5 g *munkoyo* et ébullition pendant 5 min.

En fin d'expérience les liquides sont refroidis, déféqués à l'acétate de plomb, amenés à 100 cm³, puis déplombés au bicarbonate de soude.

Un titrage au FEHLING donne respectivement :

Au n° 1 : 2,96 g de réducteurs calculés en glucose pour les 200 cm³ d'empois ;

Au n° 2 : 1,8 g de réducteurs calculés en glucose pour le même empois ;

Au n° 3 : pas de réduction appréciable.

Si on retranche la quantité de réducteurs existant dans la racine, on a $1,8 - 0,06 = 1,74$ de glucose ou $\frac{1,74 \times 100}{62} = 2,8$ de réducteurs calculés en maltose. ⁽¹⁾

Il s'agit donc, non seulement d'une *liquéfaction* de l'amidon, c'est-à-dire d'une dégradation des chaînes d'amylopectine, mais bien aussi d'une action *saccharifiante* réelle.

Nous concluons que la racine de *munkoyo* contient un ferment (ou des ferments) très soluble qui passe ins-

(1) Le pouvoir réducteur du maltose vis-à-vis de la liqueur de FEHLING est 60 à 62 % de celui du glucose. Bien entendu, nous considérons ces dosages comme de simples indications étant données les conditions précaires dans lesquelles ils ont été réalisés à Mwadingusha.

tantanément dans la bouillie amylacée. Ce ferment est comparable en cela aux meilleurs complexes saccharifiants que nous connaissions.

VII. *Extraction et précipitation du complexe amylolytique de la racine.*

Environ 17 kg de racines de *munkoyo* sont débitées en cossettes et passées dans une presse très forte (10 tonnes de pression environ). On récolte 4.672 litres de jus et 12,132 kg de cossettes pressées.

Le jus très limpide, légèrement coloré en jaune est traité immédiatement par un précipitant des protéines ⁽¹⁾. Un précipité floconneux blanc se forme immédiatement. Après une nuit en glacière, on décante et on récolte environ 400 g de précipité très humide que l'on peut, soit conserver tel quel en glacière, soit sécher sous vide azoté. Le complexe ainsi obtenu est extrêmement actif : quelques centigrammes liquéfient instantanément un empois très compact, fait avec 100 g d'amidon de manioc dans 250 cm³ d'eau. Après une heure le liquide sucré est déféqué, déplombé et examiné pour son pouvoir réducteur.

Le liquide sucré se montre fortement réducteur à la liqueur de FEHLING.

Nous avons donc bien extrait du jus des racines un complexe fermentaire qui :

1. — Liquéfie instantanément l'amidon ;
2. — Saccharifie rapidement l'empois d'amidon liquéfié.

Le produit de première précipitation se présente comme une poudre gris-sale, peu homogène : il se conserve très bien en glacière. C'est ce complexe que nous appelons *Eminiase*.

(1) Technique utilisée à l'Institut de Botanique de Liège pour précipiter les phénolases de *Impatiens balsamina* L.

Les conditions dans lesquelles nous avons travaillé à Mwadingusha ne nous ont pas permis de calculer avec précision le rendement des racines en *Eminiase* brute. Il paraît être de l'ordre de 1 à 1,5 %.

VIII. Comparaison avec d'autres ferments amylolytiques.

Nous avons comparé l'action de l'*Eminiase* avec la Pangestine ⁽¹⁾, l'amylase α , l'amylase β ⁽²⁾. Plusieurs échantillons de 2 g d'amidon REMY sont transformés en empois et additionnés respectivement de :

1. — 0,15 g d'*Eminiase* brute, l'empois étant à la température de 70° ;
2. — 0,15 g d'*Eminiase* brute, l'empois étant à la température de 35° et amené progressivement à 70° ;
3. — 0,15 g Pangestine à la température de 45° ;
4. — 0,15 g β amylase à la température de 45° ;
5. — 0,15 g α amylase à la température de 45°.

Les différents échantillons sont ensuite placés dans un thermostat à 40°. L'incubation dure 35 minutes.

La liquéfaction de l'empois se fait très rapidement dans tous les flacons, sauf dans celui qui contient la β amylase, ce qui est conforme avec ce qu'on sait de l'ineffectivité de cet enzyme sur l'amylopectine. Nous donnons au *tableau III* les teneurs en réducteurs calculés en glucose ou en maltose en considérant que le pouvoir réducteur du maltose représente 62 % de celui du glucose.

(1) De la DIGESTIVE FERMENT Co, Detroit, Michigan.

(2) De la NUTRITIONAL BIOCHEMICAL CORPORATION, Cleveland, Ohio.

Tableau III. — Teneurs en réducteurs calculés en glucose ou en maltose.

Ferment	N° des flacons	Nombre de cm ³ de solution employée pour réduire 10 cm ³ de liqueur de	Réducteurs calculés pour 2 g d'amidon, en	
		FEHLING	Glucose	Maltose
Eminiase	1	5,0	1,00	1,60
Eminiase	2	5,0	1,00	1,60
Pangestine	3	5,5	0,90	1,40
β amylase	4	7,9	0,63	1,00
α amylase	5	8,6	0,58	0,92

Si on tient compte que l'amidon ordinaire contient toujours de l'eau et des matières minérales, on voit que le chiffre 1,6 se rapporterait à la transformation à peu près totale de l'amidon en maltose ou tout au moins en un diholoside.

L'*Eminiase* se comporte vis-à-vis de l'amidon comme la Pangestine qui est un ferment multiple.

De plus le fait de placer directement l'*Eminiase* dans un mélange amylicé à la température de 70°, puis d'amener celui-ci à 45°, ne donne pas de résultats différents de ce que l'on obtient en plaçant l'*Eminiase* dans le mélange à 35° puis en amenant celui-ci à 70°. Cela signifie évidemment qu'aucun des constituants de l'*Eminiase* n'est dénaturé ou altéré à la température de 70°; par conséquent, il faut envisager que l'amylase β ne fait pas partie du complexe enzymatique.

Ce fait devra évidemment être vérifié avec soin.

Il est vraisemblable que l'*Eminiase* contient une forte proportion d' α amylase. Le spectre d'absorption en U. V. réalisé au spectrophotomètre de BECKMAN (lampe à hydrogène) montre un sommet d'absorption spécifique aux environs de 275-280 m μ (Voir figure 3). On sait que toutes les protéines qui contiennent trypt-

tophane et tyrosine montrent une bande d'absorption spécifique entre 250 et 350 μ .

CONCLUSIONS.

1. — La racine de *Mulaba munkoyo*, *Eminia polyadenia* HAUMAN, contient un complexe amylolytique très soluble dans l'eau, destructible à la chaleur (100°), précipitable de sa solution aqueuse par les réactifs des protéines. Ce complexe est donc de nature protidique et enzymatique.

2. — Nous appelons *Eminiase* le complexe enzymatique isolé par nous à Mwadingusha. L'*Eminiase* a une activité en tous points comparable à celle de la racine dont elle provient ; elle liquéfie et saccharifie rapidement un empois d'amidon chaud à une température comprise entre 45 et 70°. La durée de la liquéfaction est de 2 à 5 minutes.

3. — La teneur en sucres réducteurs obtenus dans un empois saccharifié par l'*Eminiase* correspond à une transformation à peu près complète de l'amidon en un diholoside. Nous avons refait ces expériences et analyses à Liège avec de l'amidon REMY et avec de l'amidon MERCK ; l'*Eminiase* extraite provenait de Mwadingusha. Elles ont été confirmées complètement. L'activité de l'*Eminiase* est comparable à celle de la Pangestine.

4. — La haute teneur en ferment de la racine de *Mulabo munkoyo* et l'activité hydrolysante considérable présentée par ce ferment constituent des arguments valables pour proposer :

- Une étude plus poussée de ce complexe ;
- La recherche des moyens d'industrialiser le procédé d'extraction de l'*Eminiase* ;
- L'étude des moyens de cultiver de manière rentable les espèces de *munkoyo* au Congo belge.

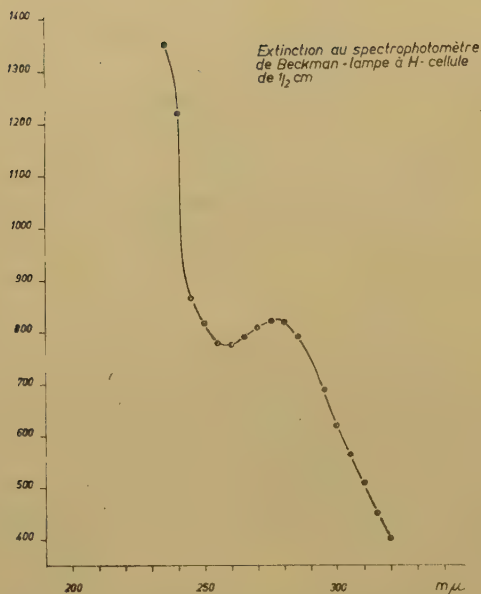


FIG. 3. — Spectre d'absorption de l'*Eminiase* brute dans l'Ultra-Violet. Toutes les protéines contenant tryptophane ou tyrosine montrent une bande d'absorption spécifique entre 250 mμ et 300 mμ ; le spectre d'absorption de la β amylase présente un maximum à 280 mμ et son inflexion à 290 mμ.

L'*Eminiase* a son point d'inflexion à 280 mμ.

La mise au point de ce programme peut être d'une grande utilité dans les industries de l'alimentation [et notamment des boissons fermentées], des textiles, des médicaments, qui ont besoin de ferments amylo-lytiques.

Dans un prochain article, nous apporterons quelques précisions sur — L'évaluation exacte du pouvoir saccharifiant de l'*Eminiase*, — La détermination par chromatographie des sucres apparaissant dans le mélange amy-
lacé, — La détermination des teneurs en azote de l'*Emi-*

niase, — La possibilité ou l'utilité de purifier l'*Eminiase* brute.

Centre FULRÉAC de Mwadingusha —
Katanga (Novembre 1958) et
Laboratoire de Phytochimie,
Université de Liège (Mars 1959).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BERNIER, G. et LAMBRECHTS, A. : Étude sur les boissons fermentées indigènes du Katanga (*A. R. S. C.*, Bruxelles, 1959).
- [2] BOUILLENNE, M. et R. : Recherches expérimentales sur l'agent toxique du pollen d'*Ambrosia* div. sp. (Compositacées) (*Bull. Acad. Roy. Belg. Cl. Sc.* 5^{me} série, T. XVI, 1930).
- [3] CORI et CORI : cité dans : P. K. STUMPF, voir 13 (*Journ. Biol. Chem.*, 1943).
- [4] FRUTTON, J. et SIMMONDS, S. : General Biochemistry (John Wiley et Sons Inc., New York, 1953).
- [5] HAWORTH, W. N., PEAT, S. et BOURNE, E. : Cité dans P. K. STUMPF, voir 13 (*Nature*, 154, 236, 1944).
- [6] HOBSON, PEAT et WHILAN : The enzymatic synthesis and degradation of Starch (*Journ. Chem. Soc.*, London, 3566, 1950).
- [7] MEYER, K., FISCHER, Ed. et all. : Purification, cristallisation et propriétés de la β amylase du Blé (*Helvet. Chim. Acta*, 36 (VII), 1953, 1924-1936).
- [8] MEYER, K. : Advances in Enzymology (Interscience Publishers, III, 1943).
- [9] OSBORNE, MENDEL et HARRIS : A study of the proteins of castor bean with special reference to the isolation of ricin (*Amer. Journ. Physiol.*, 14, 259, 1905).
- [10] POODT, A. : Le Munkoyo, boisson des indigènes (*Bull. Inst. Roy. Col. Belge*, 1954, 386-389).
- [11] SCHWIMMER et A. K. BALLS : Isolation and properties of cristalline α amylase from germinated Barley (*Journ. Biol. Chem.* 179, 1949, 1063-1074).
- [12] STUMPF, P. K. : Glycolytic Enzymes in Higher Plants (*Ann. Rev. of Plant Physiology*, III, 1952, 17-34).
- [13] WALDSCHMIDT, LUZ et MAYER, K. : (*Z. Physiolog. Chem.* 236, 1935, 1935, 168). Cité dans : J. Bonner : Plant Biochemistry (Académie Press Inc. Publishers, New-York, 1950).





OBSERVATIONS ET EXPÉRIENCES
SUR LA SEXUALISATION DU PROTHALLE
DE *LYGODIUM JAPONICUM* S. W. EN MILIEU
STÉRILE ET CONDITIONNÉ

par E. COLONVAL-ELENKOVA (*)

Les conditions physiologiques et écologiques qui déterminent l'induction de floraison chez les plantes supérieures constituent actuellement un sujet de recherches dans de nombreux laboratoires.

En vérité, l'apparition des fleurs correspond non pas au phénomène de la sexualisation proprement dit mais bien à la phase de sporaison (BOUILLENNE, 1946).

La phase sexuée chez les végétaux supérieurs est fugace et microscopique ; elle résulte de la germination des mégaspoires et des microspores donnant des prothalles femelles ou mâles extrêmement réduits, parasites du sporophyte ; ces prothalles comportent des gamètes, oosphères ou spermatozoïdes fertiles. Tandis que chez les organismes inférieurs, comme les Fougères, cette phase sexuée est représentée par un organe important, le prothalle, issu de la germination de la spore.

Dans la nature, le prothalle grandit jusqu'à l'apparition des organes sexuels : anthéridies, archégonies ; les spermatozoïdes mobiles nagent dans la lame d'eau qui recouvre le prothalle et fécondent l'oosphère située dans l'archégonie. Le zygote diploïde prolifère et donne la plante feuillée (frondes porteuses des sporanges) ; à ce moment, le prothalle (gamétophyte à n chromosomes) meurt et il ne subsiste que le sporophyte ($2n$ chromosomes).

On peut très aisément, au laboratoire, prolonger la vie du gamétophyte, qu'il porte ou non le sporophyte. Le prothalle peut se diviser, donner de jeunes prothalles qui, restant associés au prothalle initial, constituent une « colonie prothallienne » que l'on

(*) Présenté par R. BOUILLENNE, le 9 juin 1960.

peut, par une technique semblable à celle de la culture des tissus (HUREL-PY, 1950), subcultiver indéfiniment. Le gamétophyte est devenu un organisme autonome.

Dans la présente note, nous nous intéresserons à un phénomène particulier de sexualisation d'une colonie prothallienne de *Lygodium japonicum* SW (*).

Cette colonie prothallienne (envoi de M^{me} HUREL-PY, Paris 1957), originellement composée de 30 prothalles non sexués, a été divisée et chaque prothalle repiqué dans un tube en pyrex (diamètre 30 mm. et hauteur 180 mm.) contenant 30 cc. de milieu normal de Knop gélosé à 1,2 %.

Les cultures ont été placées dans les conditions suivantes : 16 heures de jour (tube Phytor C. R. H. Lg. 5.000 Lux), température du jour 25°C. et celle de la nuit 23°C.

Des repiquages ont été effectués tous les 45 jours en partant d'un seul prothalle de chaque colonie.



Fig. 1. — Différents aspects de formation d'une colonie prothallienne à partir d'un prothalle repiqué sur milieu de Knop gélosé.

Dans les conditions de laboratoire, la vie du prothalle évolue autrement que dans la nature. Avant d'atteindre le stade de la maturité, les bords du prothalle commencent à se recourber et à se découper en forme de lobes. On remarque même un dédoublement des deux faces. Les lobes grandissent et deviennent des prothalles adventifs (Fig. 1) qui restent attachés au premier prothalle. A leur tour, les jeunes prothalles donnent naissance à des nombreux prothalles (III^e génération) et ainsi de suite jusqu'à former une colonie prothallienne (Fig. 2).

Pendant près d'un an, de repiquage en repiquage, ces prothalles se sont maintenus en bonne santé ; ils sont restés cordiformes, d'un beau vert et ont gardé l'échancrure ainsi que le coussinet bien

(*) *Lygodium japonicum* SW. est une fougère dont l'aire géographique est : Inde, sud de Chine, Malaisie et N. E. de l'Australie.

marqués. La formation de colonies prothalliennes s'est toujours effectuée partout à partir d'un prothalle.

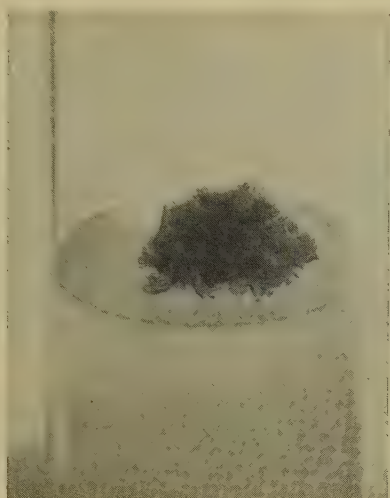


Photo R. Sauveur.

Fig. 2. — Colonie prothallienne monosporique de
Lygodium japonicum Sw. âgée de 45 jours.

Mais ces prothalles ne se sont jamais sexualisés. Cependant, les résultats obtenus par Madame HUREL-PY, ainsi que les nôtres, tous deux à partir de spores de cette même espèce de Fougère montrent que les prothalles peuvent, en milieu conditionné, se sexualiser normalement.

Semant en milieu aseptique gélosé (Knop normal) des spores de *Lygodium japonicum* Sw. nous avons obtenu des gamétophytes porteurs d'organes mâles et femelles normaux qui ont donné des sporophytes normaux eux aussi et dont les spores en germant reconstituaient le cycle.

Or, les colonies prothalliennes reçues de Paris et subcultivées dans les mêmes conditions ne se sont jamais sexualisées.

Mais après environ 8 mois de subculture, ces prothalles ont présenté brusquement des excroissances d'une forme particulière que nous allons décrire.

Certaines cellules situées superficiellement sur les deux faces des prothalles produisent une cellule hémisphérique, chlorophyllienne qui se divise plusieurs fois, le plus souvent parallèlement à la surface

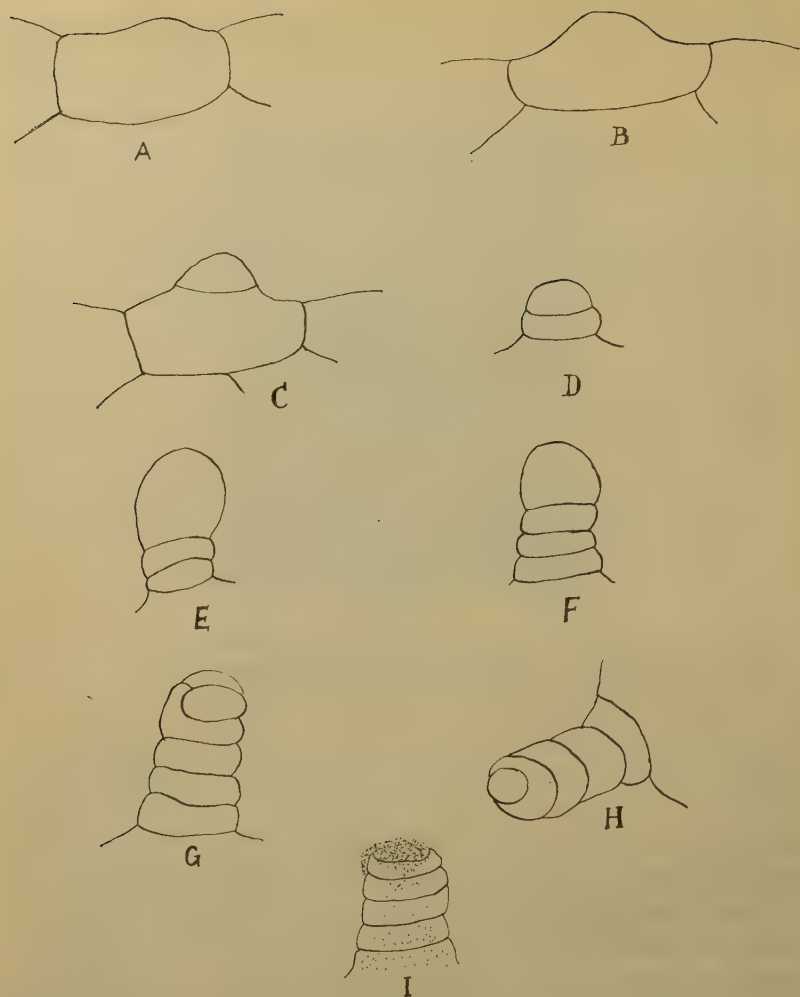
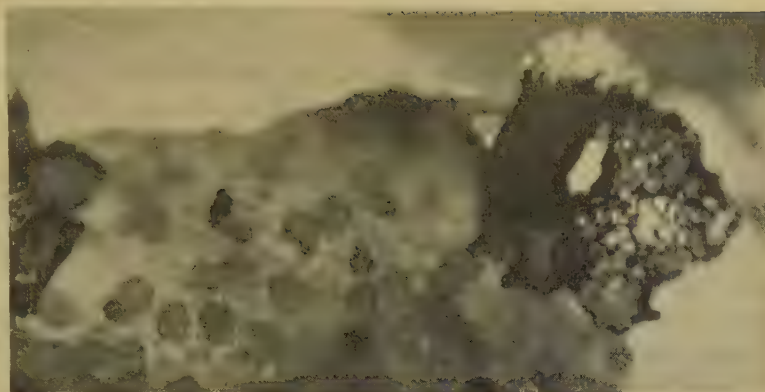


Fig. 3. — Dessins schématiques de la naissance des protubérances en forme de poils sur la surface d'un prothalle de *Lygodium japonicum* Sw. cultivé pendant plus de 12 mois

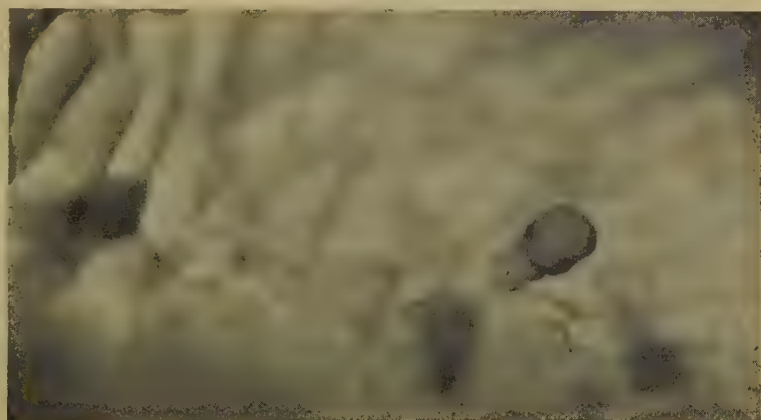
du prothalle et qui constitue une protubérance en forme de poil. Quand cette formation atteint le stade de 6-7 cellules empilées, on constate que ses cellules commencent à se nécroser. La dernière cellule formée au sommet se détache. Les cellules inférieures au contenu brunâtre se vident dans le milieu extérieur puis elles se dessèchent complètement. Les observations microscopiques ne nous ont pas permis de savoir s'il existe un canal excréteur ou si les



(Photo R. Sauveur)

Fig. 4. — Au centre, protubérances en forme de poil apparaissant sur les prothalles de *Lygodium japonicum* Sw.

Grandissement : 360.



(Photo R. Sauveur)

Fig. 5. — Une protubérance en forme de poil sur prothalle de *Lygodium japonicum* Sw.

Grandissement : 900

cellules se vident directement de leur propre contenu. Les dessins de la Fig. 3 et les photographies (Fig. 4 et 5) constituent l'illustration de ce phénomène.

Nous avons continué à cultiver ces colonies prothalliennes dans les mêmes conditions en les repiquant tous les 45 jours. Les prothalles restent cordiformes et d'un beau vert. Les protubérances n'ont pas changé d'aspect ni de comportement. Leur nombre est devenu de plus en plus élevé : nous avons pu compter sur des prothalles de 0.5 cm² jusque 115 à 124 excroissances réparties sur toute l'étendue des deux faces. Dès plus, les coussinets de prothalles ont subi un épaissement considérable (15 à 17 couches des cellules) et la section en apparaît nettement ovale, voire ronde.

Nous pouvons conclure de ces observations que, si les prothalles expérimentés n'ont pas produit d'organes sexués, ils ont cependant fait apparaître des excroissances stériles qui n'ont jamais été aperçues sur les prothalles normalement sexués.

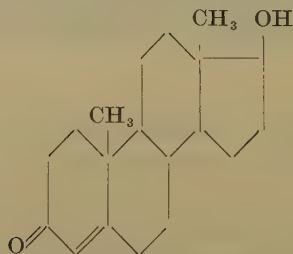
La question est donc posée de savoir si ces excroissances sont rattachées en quelque façon à une production avortée d'organes sexués.

Nous avons tenté de voir si une application d'hormones mâle et femelle permettrait à ces formations d'évoluer vers un stade anthéridie ou archégone plus complet.

I. — INFLUENCE DES HORMONES DE SYNTHÈSE AJOUTÉES AUX MILIEUX DE CULTURE DE PROTHALLES DE LYGODIUM JAPONICUM Sw.

Des prothalles de *Lygodium japonicum* subcultivés comme il a été dit pendant 16 mois ont été placés dans un milieu de culture (Knop normal gélosé à 1,2 %) contenant des hormones de synthèse mâle et femelle.

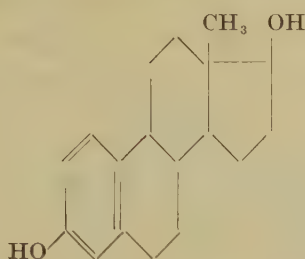
I. Hormone testiculaire — TESTOSTERONE (produit CIBA)



Poids moléculaire 288,4 (C₁₉H₂₈O₂).

Point de fusion 155°.

2. Hormone folliculaire — OESTRADIOL (produit CIBA).



Poids moléculaire 272,4.

Point de fusion 178°.

Ces hormones fournies en poudre, ont été dissoutes dans de l'éther. On introduit alors la quantité voulue dans le milieu nutritif encore chaud (45°-50°) avant la solidification de la gélose. L'opération se fait en chambre stérile, les tubes étant bouchés après l'évaporation complète de l'éther.

Nous avons préparé 4 séries de tubes contenant chacun 30 cc de milieu. Les hormones ont été ajoutées d'après le plan suivant :

1^{re} série : 30 cc de Knop normal gélosé + 10 γ d'hormone femelle (Oestradiol) par tube.

2^e série : 30 cc de Knop normal gélosé + 10 γ d'hormone mâle (Testostérone) par tube.

3^e série : 30 cc de Knopp normal gélosé + 10 γ d'oestradiol + 10 γ de Testostérone par tube.

4^e série : Témoin — 30 cc de Knopp normal gélosé.

Les observations suivantes sont faites au 45^e jour :

1^{re} série :

L'action de l'oestradiol n'a pas modifié l'aspect des protubérances existant au moment du traitement, celles-ci évoluent comme dans les témoins. Mais, les nouveaux prothalles formés en présence de l'hormone produisent des protubérances sur les deux faces qui sont beaucoup moins nombreuses que précédemment (en moyenne 16 sur la face supérieure et 8 sur la face inférieure) mais qui évoluent aussi vers la nécrose. De plus, sur la face inférieure seulement, apparaissent des protubérances d'un autre type. Celles-ci constituent 92 % des productions visibles sur la face inférieure. Elles sont plus

courtes (3-4 cellules) que les protubérances décrites précédemment. Les cellules se sont divisées transversalement laissant entre elles un canal. Dans la profondeur du prothalle des remaniements cellulaires interviennent et une sorte de cavité se forme. Toutefois les cellules de cette cavité ne dépassent pas la deuxième couche en épaisseur des cellules prothalliennes. Vues au microscope, les protubérances ainsi constituées ressemblent à des archégones incomplètement développés. Le canal du col et la cavité sont remplis de substance brunâtre. Le dessin (Fig. 6) représente la disposition cellulaire de ces organes.

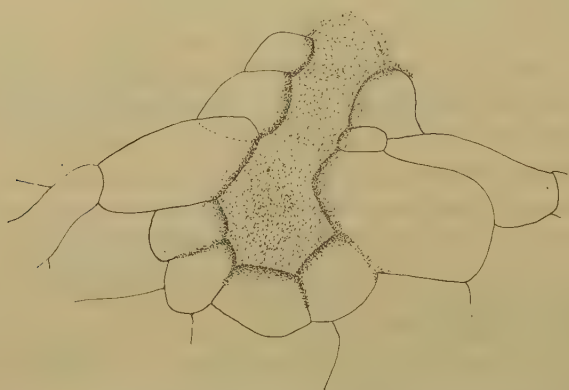


Fig. 6. — Dessin d'une formation cellulaire en forme d'archégone obtenue sur prothalle de *Lygodium japonicum* Sw. cultivé sur milieu contenant de l'oestradiol.

2^e série :

Comme l'oestradiol, le testostérone est sans action sur les protubérances existant déjà sur le thalle au moment du traitement.

Le testostérone a présenté une action uniquement sur les protubérances formées après le traitement :

1. Celles-ci sont aussi nombreuses que chez le témoin.
2. Elles occupent les deux faces des prothalles.
3. La plupart (90 %) ont une forme particulière qui les rapproche des anthéridies.

Au lieu de 6-7 cellules empilées décrites précédemment dans les témoins, ces formations comportent 5-6 cellules formant une petite sphère, remplie d'une masse incolore et gélatineuse dans laquelle existent une dizaine des très petites cellules de formes

diverses. Cette sphère est attachée au prothalle par un pied formé de 2-3 cellules. L'organe s'ouvre. La masse gélatineuse s'écoule et entraîne les cellules qu'elle contient. Ces cellules n'ont pas de cils

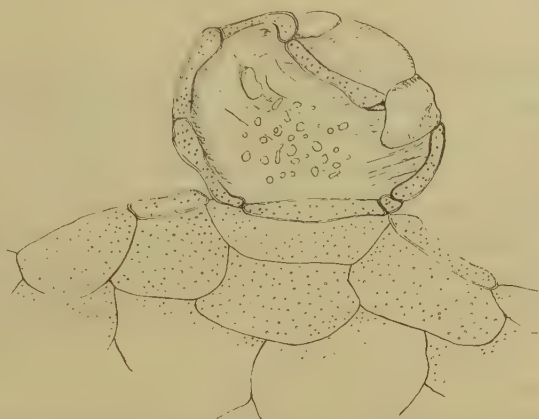


Fig. 7. — Dessin d'une formation cellulaire en forme d'antheridie obtenue sur prothalle de *Lygodium japonicum* Sw., cultivé sur milieu contenant du testostérone



Fig. 8. — Comme Fig. 7, à un stade plus avancé. La cellule apicale a disparu : le contenu de la formation antheridienne se répand à l'extérieur

vibratiles comme de vrais spermatozoïdes. Leur formation ne correspond donc pas à la phase entière de la spermatogenèse. Les dessins (Fig. 7 et 8) montrent le détail de ces anthéridies incomplètes.

3^e série :

Les prothalles de cette 3^e série ont été en contact avec les 2 hormones. Parmi les nombreuses protubérances du même type que celles du témoin (en moyenne 47 sur la face inférieures et 51 sur la face supérieure) nous avons pu compter 12 formations du type anthéridie sur la face supérieure et 7 du type archégone sur la face inférieure. Mais ces formations ainsi qu'un grand nombre de cellules prothalliennes sont nécrosées. Il est possible que dans ce cas la concentration de 20 γ par tube de 30 cc. de gélose ait été excessive.

4^e série :

Les prothalles de cette série servent de témoin. Les deux faces sont couvertes des protubérances en forme de poil, que nous avons décrites précédemment. Le coussinet qui normalement occupe dans la partie médiane du prothalle 1/4 de sa largeur totale, dans le cas présent s'étale sur les 3/4 de celle-ci. Sa section est presque circulaire.

II. — INFLUENCE DE DIFFÉRENTES CONCENTRATIONS D'HORMONES SEXUELLES DE SYNTHÈSE SUR DES PROTHALLES DE *LYGODIUM JAPONICUM* SW.

ISSUS DE COLONIES DÉJÀ TRAITÉES UNE PREMIÈRE FOIS

Les résultats obtenus lors de l'expérience précédente se sont révélés intéressants et nous ont engagé à tenter des essais, à différentes concentrations sur les prothalles de *Lygodium japonicum*. Dans ce but, nous avons divisé en 5 lots chacune des séries 1, 2 et 3 qui avaient déjà subi le premier traitement, de sorte que ce sont en réalité les prothalles adventifs de 2^e et 3^e générations, par rapport à celle utilisée dans l'expérience précédente que nous étudierons à présent.

Chacun de ces prothalles a été repiqué dans un tube contenant 30 cc du milieu Knop normal gélose à 1,2 % auquel on a ajouté des hormones mâles et femelles comme il a été dit plus haut :

1^{re} série : I a — 5 γ d'oestradiol par 30 cc de milieu Knop.

I b — 10 γ »

I c — 15 γ »

I d — 20 γ »

I e — 25 γ »

2^e série : II a — 5 γ de testostérone par 30 cc de milieu Knop.

II b — 10 γ »

II c — 15 γ »

II d — 20 γ »

II e — 25 γ »

3^e série : III a — 5 γ d'oestradiol + 5 γ de testostérone 30 cc/mil

III b — 10 γ » + 10 γ »

III c — 15 γ » + 15 γ »

III d — 20 γ » + 20 γ »

III e — 25 γ » + 25 γ »

4^e série : Témoin — 30 cc du milieu de Knopp.

Les observations ont été, comme dans le 1^{er} essai, faites après 45 jours.

I a.

L'oestradiol, en deuxième application, à la concentration de 5 γ par 30 cc n'a pas arrêté complètement l'apparition sur les deux faces des prothalles des protubérances en forme de poil. Mais celles-ci sont très rares, surtout sur la face inférieure. Cette dernière porte sur toute son étendue (sur le coussinet, sur les lobes et parmi les



Fig. 9. — Dessin d'une formation en forme d'archégone obtenue sur prothalle de *Lygodium japonicum* Sw. traité deux fois par de l'oestradiol

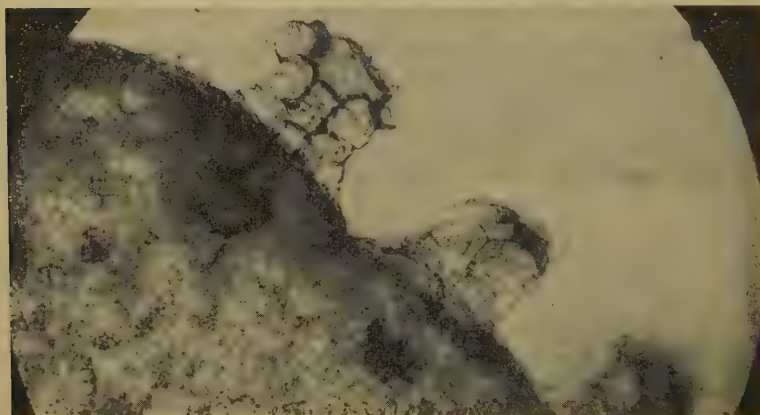


(Photo R. Sauveur)

Fig. 10. — Photographie d'une section transversale du coussinet d'un prothalle de *Lygodium japonicum* Sw. traité deux fois par de l'oestradiol.

On voit parmi les rhizoïdes les formations archégonales

Grandissement : 360



(Photo R. Sauveur)

Fig. 11. — Une partie de la photo 10 agrandie 5 fois.

On distingue dans la profondeur du thalle la cavité oosphérique nécrosée

rhizoïdes) de nombreuses formations du type archégone (96 %). La cavité de l'archégone est bien formée. Elle se trouve au niveau de la troisième couche de cellules du prothalle. Le contenu du canal du col et de la cavité est brunâtre (dessin Fig. 9, photo Fig. 10 et 11).

I b.

Les formations de type archégone sont bien développées. Il se trouve encore cependant des productions en forme de poil. Le contenu du canal du col, de la cavité et les parois internes des cellules qui forment les archégonies sont d'un brun foncé.

Ainsi donc, une deuxième application de 10 γ d'oestradiol diminue le nombre de protubérances en forme de poil, tout en maintenant au même niveau le nombre de formations du type archégone. Cependant l'aspect brunâtre de nécrose est plus marqué.

I c, d, e.

Les concentrations 15 γ , 20 γ et 25 γ se sont révélées peu favorables en ce que les archégonies obtenus présentent des signes de nécrose de plus en plus prononcés, jusqu'à toucher les tissus des prothalles eux-mêmes dans la série I e (25 γ).

En somme, nous avons, comme dans le 1^{er} essai, obtenu des formations archégoniques mais nous ne pouvons savoir si elles contiennent des oosphères normalement constituées.

II a.

On observe nombreuses formations du type anthéridie couvrant les deux faces du prothalle. L'aspect de ces anthéridies est normal : cellules formant une cavité (2 cellules annulaires superposées et une cellule apicale). Le pied est formé d'une à deux cellules. Ces formations correspondent à la description donnée généralement pour les anthéridies de Fougères. La cavité est remplie de nombreuses cellules qui ont une forme de croissant. Celles-ci sont plongées dans une masse gélatineuse, réfringente, se mélangeant rapidement avec l'eau de la préparation lorsque le contenu des anthéridies s'écoule après l'écartement de la cellule apicale. Les pseudospermatozoïdes libérés ne sont pas mobiles ; ils n'ont pas de cils vibratiles. Ils ne semblent donc pas être arrivés à maturité (Fig. 12 et 13).



(Photo R. Sauveur)

Fig. 12. — Photographie d'une section transversale du coussinet d'un prothalle de *Lygodium japonicum* Sw. traité deux fois par du testostérone. On voit sur les 2 faces du coussinet des formations anthéridiennes.

Grandissement : 360



(Photo R. Sauveur)

Fig. 13. — Une partie de la photo 12 agrandie 5 fois. On distingue toute la disposition cellulaire de l'antheridie avec la cellule apicale écartée et le contenu anthéridien avec les cellules en forme de croissant, pseudo-spermatozoïdes.

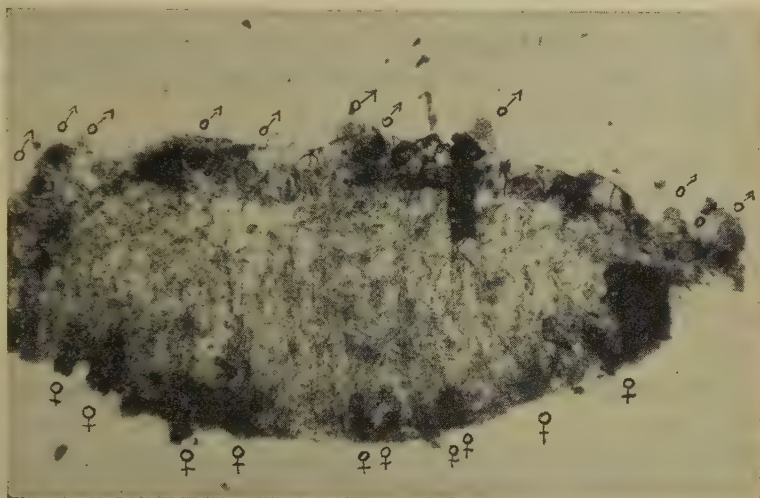
II b.

L'apparence de nécrose est accentuée jusque dans les divers lots *c, d, e*, la série II. Dans la série traitée par 25 γ de testostérone la mort des anthéridies est évidente.

III a.

Les formations du type anthéridie se trouvent uniquement sur la face supérieure et les archégonies sur la face inférieure.

La moitié des anthéridies et la totalité des archégonies sont nécrosées (Fig. 14).



(Photo : R. Sauveur)

Fig. 14. — Photographie d'une section transversale du coussinet d'un prothalle de *Lygodium japonicum* Sw traité deux fois par les 2 hormones (testostérone et oestradiol).

On voit sur la face supérieure du coussinet des formations anthéridiennes et sur la face inférieure de formations archégonales fortement nécrosées

III b, c, d, e.

Dans toutes les séries des prothalles traités avec les deux hormones à la fois, la nécrose se produit beaucoup plus tôt que dans les autres séries. Déjà évidente dans la série III a, elle est quasi complète dans la série III b (10 γ) et les prothalles meurent à partir de la concentration de 15 γ de chacune des deux hormones.

CONCLUSIONS

1. Des semis de spores de *Lygodium japonicum* Sw. réalisés à Paris par Madame HUREL-PY et à Liège par nous dans des conditions parallèles mais non complètement identiques de culture, ont produit des organes sexuels mâles et femelles (58 jours après semis, dans nos conditions de culture).

2. Les colonies prothalliennes de la même espèce, d'âge indéterminé (M^{me} HUREL-PY) entretenues dans nos conditions habituelles de culture, n'ont pas produit d'organes sexués après 8 mois de repiquages successifs ; elles se sont couvertes de protubérances en forme de poils très abondants sur les deux faces des prothalles. Ces résultats se sont confirmés de repiquage en repiquage pendant des mois. Après 22 mois de subculture, elles continuaient à produire régulièrement les protubérances décrites.

3. Nous avons considéré que ces protubérances en forme de poil étaient des ébauches avortées d'organes sexuels, mais que les prothalles manquaient des éléments biochimiques nécessaires à la formation des organes sexuels.

4. Ces prothalles traités par diverses concentrations d'hormones de synthèse oestradiol et testostérone ont montré les faits suivants :

a) Les concentrations faibles utilisées (5 γ et 10 γ) ont provoqué respectivement : pour l'oestradiol la diminution de nombre de protubérances en forme de poil et l'apparition d'archégonas plus ou moins complètement différenciés ; pour la testostérone la diminution, voire même par un deuxième traitement la disparition complète des protubérances en forme de poil et la formation d'anthéridies clairement différenciées mais ne contenant pas de spermatozoïdes parfaits.

b) Les concentrations au-delà de 10 γ sont toxiques. Il est intéressant de signaler que le traitement par les deux hormones simultanément a fait apparaître des anthéridies sur la face supérieure, des archégonas sur la face inférieure des prothalles. Un deuxième traitement a accentué cette réaction en multipliant le nombre d'anthéridies et d'archégonas tout en éliminant complètement les protubérances en forme de poil.

c) Dans aucun cas, nous n'avons observé de fécondation et de développement de l'œuf fécondé. Nous savons que les spermato-

zoïdes étaient cellulièrement incomplets (absence de cils vibratils) ; nous n'avons pas de renseignement précis sur l'état des oosphères.

INSTITUT DE BOTANIQUE DE
L'UNIVERSITÉ DE LIÈGE
(Laboratoire de Physiologie Végétale et
Centre de Recherches des Hormones
Végétales)
(Travail subsidié par l'I. R. S. I. A.)

BIBLIOGRAPHIE

- BOUILLENNE R., *Phytobiologie*. Vaillant-Carmanne, Liège, p. 318, 1946.
HUREL-PY, Recherches préliminaires sur la culture aseptique de prothalles de Filicinées. *Revue génér. Bot.*, 57, 1950.

IMPRIMERIE GEORGE MICHELS, S. A., 6 RUE DE LA PAIX, LIÈGE
PRINTED IN BELGIUM

Extrait de :

LE JEUNIA

REVUE DE BOTANIQUE

Tome 23

1959

pp. 1 - 128

Philip R. WHITE Ph. D.

Roscoe B. Jackson Memorial Laboratory

Bar Harbor, Maine, U. S. A

CONTRIBUTION APPORTÉE A LA CONNAISSANCE DU CANCER PAR LA TECHNIQUE DE LA CULTURE DES TISSUS

LES PRESSES DE LEJEUNIA

RUE FUSCH 3, LIÈGE

ERRATA

- p. 5, ligne 5, lire « Philip » au lieu de « Phillip ».
- p. 26, légende de la fig. 5, lire : « ... d'un neuroblaste de grenouille cultivé... ».
- p. 33, la deuxième ligne de la légende de la fig. 9 doit être transposée à la légende de la fig. 8, p. 32, dont elle est la deuxième ligne.
- p. 68, fig. 15, en haut à gauche, lire « 24 » au lieu de « 12 » sous *N. glauca*.
- p. 69, fig. 16, dernière légende en bas, à droite, supprimer le mot « infecté ».
- p. 105, ligne 5, lire « théorique » au lieu de « thorique ».
- p. 108, ligne 2 du bas, lire « se » au lieu de « ses ».
- p. 129, ligne 1, lire « Morphogenèse » au lieu de « Morhogenèse ».
- p. 135, ligne 22, lire « ... dans l'animal. Bien que, en enlevant... ».
ligne 24, lire « ... population mixte, il semble que... ».

CONTRIBUTION APPORTÉE A LA CONNAISSANCE DU CANCER PAR LA TECHNIQUE DE LA CULTURE DES TISSUS

par

Phillip R. WHITE

Roscoe B., Jackson Memorial Laboratory
Bar Harbor, Maine, U. S. A.

Le texte présenté dans les pages qui suivent est basé essentiellement sur les résultats de nos travaux et leur confrontation avec la documentation actuelle concernant le problème du cancer et la technique de la culture des tissus : sujet vaste aux ramifications diverses et d'une importance primordiale.

Nous en avons fait la matière de trois séries de conférences que nous avons eu l'honneur de donner à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris, au Collège de France et à l'Université de Liège, pendant l'année 1958-1959 (*).

Notre but est de donner une idée d'ensemble d'une méthode particulière de recherche employée depuis un demi-siècle pour l'étude de matériaux pris dans les deux règnes, animal et végétal et l'incidence de celle-ci sur l'étude du cancer et les moyens de lutter contre lui.

Je suis appelé à parler de ce sujet parce que, depuis plus de vingt-cinq ans je me suis appliqué à créer et à perfectionner les techniques

(*) Nous devons la réalisation de ce travail de synthèse à la bienveillance de M. J. PEREZ, Doyen de la Faculté des Sciences de l'Université de Paris, qui nous a officiellement invité dans le centre intellectuel français. MM. R. GAUTHERET, Professeur de Biologie végétale à l'Université de Paris et E. WOLFF, Professeur d'Embryologie au Collège de France ont été les parrains qui m'ont ouvert leurs amphithéâtres et leurs laboratoires.

Le Doyen de la Faculté des Sciences de l'Université de Liège, M. O. ROZET, nous a permis de rencontrer des auditeurs attentifs rassemblés par les soins de MM. R. BOUILLENNE, Professeur de Botanique et M. CHÈVREMONT, Professeur d'Histologie.

M. LEROUX, Sous-directeur de la Station de Biologie Armand Richelieu à la Sorbonne a bien voulu revoir les manuscrits rédigés dans une langue qui n'est pas la mienne. M^{me} R. BOUILLENNE-WALRAND, Sous-directeur du Centre de Recherches des Hormones Végétales, MM. J. DAMBLON et R. RONCART, collaborateurs à la revue « Lejeunia » ont enfin mis au point le texte définitif soumis à l'impression.

dans ce domaine en appliquant ces méthodes. J'ai fait d'abord des recherches sur les tissus des plantes, puis sur les tissus des animaux.

Il y aura certainement parmi mes lecteurs des personnes travaillant dans des spécialités différentes de la mienne. Pour leur transmettre mes idées avec clarté et précision, pour que nous nous comprenions bien et avançons ensemble dans cet exposé, je dois éviter le plus possible de m'appuyer sur la « béquille » d'un jargon spécial compris seulement par quelques-uns. Mais il est difficile de ne pas user de mots techniques si l'on veut être aussi bref qu'il se doit dans les limites de temps imposées. Je suppose donc, que mes lecteurs seront tous au courant du langage de la biologie. J'essayerai de ne pas employer de termes techniques chaque fois que les mots courants pourront les remplacer.

Je n'ai aucune compétence comme médecin spécialiste; ma seule autorité est celle d'un biologiste. C'est donc surtout aux étudiants de biologie que je m'adresse. Si mon exposé semble aux autres personnes quelquefois trop élémentaire, je leur dirai tout simplement : « Ce texte n'est pas pour vous. Mettez-le de côté ».

Le sujet de l'ensemble de ces conférences est une maladie : le cancer, et une méthode : la culture des tissus.

Qu'est-ce que le cancer?

Parmi vous, il est sans doute des pathologistes médicaux. Vous employez certains mots dans un sens très particulier. Si vous êtes des puristes, « le cancer » d'après vous, sera synonyme de carcinome : une excroissance maligne épithéliale qui se propage par infiltration dans les tissus voisins et dans la cavité du corps. Cette définition nous limite à une maladie des animaux supérieurs, surtout de l'homme, et même plus précisément à une maladie de l'épithélium. Les tumeurs malignes des os appelées les ostéomes, celles des muscles : les rhabdomyosarcomes, et celles de tissus gras : les lipomes, ne seraient pas, d'après cette définition, de véritables cancers. Il serait alors impossible d'admettre que les cancers des plantes ou des animaux primitifs puissent exister.

Mais la plupart d'entre vous, pas plus que moi, n'êtes des médecins; les victimes du cancer non plus. Le malade mourant d'une tumeur des muscles : un rhabdomyosarcome, ne sera pas réconforté par la pensée que sa maladie n'est pas « un cancer », nom que l'on peut donner à l'épithéliome du poumon qui étouffe un pauvre homme dans la chambre voisine. Une distinction si subtile est d'une stérilité singulière pour nous, victimes possibles.

Notre dictionnaire américain WEBSTER définit le « cancer » : « toute tumeur maligne ». « Maligne », c'est-à-dire « qui tend à tuer », et « tumeur » : « toute masse de tissus non inflammatoires qui est caractérisée par une croissance et une structure indépendante, sans fonction physiologique normale et qui prend naissance dans des tissus déjà existants, sans cause évidente ».

C'est une définition de biologiste. Remarquons que, en nous fournissant tous les éléments essentiels, elle ne nous dit rien des tissus particuliers d'origine ni des espèces vivantes intéressées; la victime peut être une plante ou un animal, un embryon ou un adulte, un être sain ou malade, un épithélium, un os, un nerf, de la moëlle ou du bois.

Si large que soit cette définition, elle présente néanmoins quelques limites. L'indépendance de structure ne peut avoir de signification que dans les cas où la dépendance des cellules est la condition normale. Ce sont des cellules et des tissus normalement dépendants qui sont libérés par la maladie. Cette définition peut donc être employée uniquement pour des êtres complexes, constitués de tissus réciproquement dépendants. Tous les organismes primitifs : les bactéries, les protozoaires et protophytes unicellulaires ou acellulaires, de même les organismes multicellulaires coloniaux sans organisation spécialisée sont exclus du cadre de cette définition. Il pourrait donc exister des cancers des vers, des coelentérés et des fougères mais pas de cancers des coraux ni des algues simples.

Il y a dans cette définition un parti-pris que je ne puis accepter que provisoirement parce qu'elle ne concerne pas la maladie mais plutôt notre ignorance des faits. Dire qu'une maladie est « sans cause évidente » n'explique rien de la maladie. Cela laisserait supposer que, si nous découvrons la cause, la maladie cessera de s'appeler un cancer et sera classée dans une autre catégorie, de même qu'un « Fungus imperfectus » devient Phycomycète ou Ascomycète dès que nous découvrons en lui un état sexué. Le cancer à virus ne devrait donc pas s'appeler « cancer ». J'espère qu'une telle dialectique a dû être abandonnée à la Sorbonne avec la mort de Guillaume de Champéaux, il y a huit cents ans.

Vu les imperfections de cette définition, je vais me borner, pour le moment à ne considérer que les aspects fonctionnels de la maladie.

Le cancer est alors une maladie caractérisée par le fait que certains tissus deviennent indépendants et anormaux.

Qu'est-ce qu'un tissu?

Un tissu est une masse de cellules dont le type et la fonction sont uniques. Un muscle particulier peut être traversé par des vaisseaux

sanguins, des nerfs, des tissus conjonctifs, des éléments adipeux, mais quand nous parlons de « muscle » en tant que type de tissu, nous ne parlons que des fibres contractiles musculaires. Le rhabdomyosarcome est donc une maladie des cellules musculaires. Dans un nerf il peut y avoir des axones, des cellules de Schwann et des éléments de myéline, mais un neuroma, proprement dit, est une maladie n'affectant que l'axone et son neurone. Les maladies des cellules de Schwann doivent être et sont appelées d'un autre nom. Plus tard cette question de classification jettera peut-être quelque confusion dans nos considérations mais pour l'instant nous pouvons l'accepter sans gêne.

Je veux tout particulièrement insister sur le fait que le cancer, de quelque sorte qu'il soit, est une maladie de cellules spécifiques et qu'il faut porter nos recherches sur les cellules en tant qu'unités indépendantes plutôt que sur les relations qu'elles ont entre elles. Ainsi je voudrais rappeler le fait bien connu de nous tous, mais souvent oublié, qu'il n'existe pas, en vérité de cancer du poumon, des glandes surrénales, de la vessie, mais uniquement des cancers de l'épithélium cilié du poumon, des cellules corticales des glandes surrénales, des cellules épithéliales du collet de la vessie. Ne perdons jamais de vue le caractère cellulaire de la maladie.

N'importe quelle cellule d'un corps vivant n'étant une unité effective qu'en se trouvant intégrée dans le mécanisme complexe de ce corps, la vie et la santé de chaque partie du corps seront diminuées par chaque déviation de cette intégration normale. Des déviations minimales peuvent être tolérées, soit si la partie touchée est elle-même peu importante; (l'appendice vermiforme par exemple) soit si, comme le foie, la partie est trop massive pour qu'elle puisse être facilement troublée; mais tout dérangement d'une partie cruciale comme la glande pituitaire, le pancréas, le cœur, les nerfs principaux peut être fatal. Si le dérangement empêche suffisamment l'intégration des fonctions, le mécanisme ne marche plus. La mort est une panne d'intégration. Les cellules et les organes restent vivants, comme unités, longtemps après la fuite de la « vie » du corps; par contre la mort d'une partie n'entraîne pas nécessairement la désintégration totale. La paralysie est une mort régionale.

Si comme nous l'avons déjà dit, le cancer est une maladie par laquelle une ou plusieurs cellules, avec leurs descendants, deviennent indépendantes des mécanismes d'intégration et perdent ainsi leurs fonctions physiologiques, c'est précisément par ce déroutement du progrès régulier du mécanisme qu'elles se montrent léthales. Nous sommes alors en présence d'une anomalie : c'est précisément la cellule qui est, dans

son caractère d'unité indépendante, douée d'une activité et d'une efficacité augmentées, qui devient responsable de l'inefficacité et de la destruction finale du tout. C'est mon devoir de vous présenter les recherches par lesquelles les techniques de la culture des tissus ont contribué et peuvent continuer à contribuer à la compréhension de ce problème.

L'intégration, la dépendance des cellules entre elles, tous ces phénomènes auxquels le cancer est tellement opposé caractérisent tout organisme complexe, depuis les Mousses et les Fougères, les Cryptogames vasculaires jusqu'aux plantes les plus évoluées et, dans le règne animal depuis les Coelentérés et les vers jusqu'à l'Homme. Le cancer, comme phénomène de désintégration peut exister à tout niveau évolutif chez les organismes multicellulaires. Nous ne connaissons pas, d'ailleurs, de cancers véritables chez des êtres moins évolués que les Insectes, les Poissons et les Amphibiens, ni chez les plantes moins évoluées que les Phanérogames. Je pense que ces limites ne sont probablement pas réelles mais dues plutôt à un manque d'observation. Il existe en effet une lacune semblable dans notre connaissance des maladies à virus, chez les plantes. Les Bactériophages, parasites ou saprophytes des plantes unicellulaires les plus primitives, sont des virus; ils existent en grande variété et ont contribué largement à la connaissance que nous avons de ces êtres. Mais, à partir des Bactéries, nous passerons la gamme entière des étages évolutifs — Algues, Champignons, Hépatiques, Mousses, Fougères, Cycadées et Gymnospermes — avant de trouver encore des maladies à virus. On les trouve en grand nombre chez les Angiospermes. Il semble peu vraisemblable que ces agents infectieux aient choisi les deux extrémités de l'échelle évolutive en laissant indemnes toutes les étapes intermédiaires. L'autre explication, qu'il existe des maladies à virus attaquant ces autres plantes, maladies que nous n'avons pas encore trouvées par simple manque d'attention, semble beaucoup plus probable. Les Bactéries, nos ennemis les plus féroces (laissant de côté l'homme lui-même), sont ainsi dignes de notre attention la plus proche; et les Angiospermes comprennent nos sources les plus importantes de comestibles, d'habillements, de protection, de drogues et d'autres produits utiles, tandis que les Algues, les Mousses et les Fougères sont d'une valeur relativement faible pour nos besoins. De même, les Vers, les Coraux, des Coelentérés ont attiré moins d'attention que les Mammifères. Qui, sauf le naturaliste dans sa tour d'ivoire, s'intéresse aux maladies des Coelentérés? Mais les insectes troublent notre confort ou nous donnent du miel; ainsi nous avons trouvé et étudié une tumeur étrange qui frappe les nerfs et les intestins de la mouche du vinaigre, la Dro-

sophile, et une autre qui attaque les ovaires des insectes. Nous connaissons un néphrome malin de la grenouille étudié par LUCKÉ. Nous avons étudié des mélanomas héréditaires des poissons du type « sword-tails ». Parmi les tumeurs connues dans les cliniques, la première qui fut introduite dans le laboratoire pour être soumise à des études plus approfondies par les méthodes scientifiques, est un sarcome du rat, qui pouvait, ainsi que l'a montré JENSEN, être transplanté en série par simple greffage sur un animal sain. Depuis cette date des centaines de tumeurs transmissibles par greffage ont été décrites et largement étudiées (fig. 1).



Fig. 1. — Tumeurs dans les grandes divisions des êtres vivants :

A. Amphibien. Tumeur de rein de grenouille, d'après LUCKÉ.

B. Mammifère. Tumeur péritonéale de souris, d'après ROUS.

C. Arbre. Tumeur d'Epicéa, d'après WHITE.

Ce même JENSEN a ajouté aussi une autre tumeur très différente à la liste de celles qui sont accessibles à la recherche expérimentale; une que je considère de la plus grande importance : le « crown-gall » des plantes. Le savant américain, E. F. SMITH avait décrit une maladie qu'il avait démontrée être le résultat d'une infection par une bactérie : *Agrobacterium tumefaciens*. Ses collègues médicaux ont considéré la maladie comme un simple « tératome d'irritation », d'origine évidente, ainsi pas un cancer d'après notre définition stricte. Mais JENSEN avait trouvé, chez la betterave, une maladie qu'il croyait être la même mais de laquelle, au stade de maturité, il n'a pas pu isoler de bactéries. Il en avait conclu que les tissus de betterave étaient stériles, par perte ou par suppression de l'agent excitant. Néanmoins, quand un morceau de tumeur était isolé d'une betterave rouge et greffé sur une racine

blanche, les cellules greffées continuaient à se développer en tumeur constituée uniquement de cellules pigmentées. Les cellules de la betterave même sont devenues l'agent de tuméfaction, en remplaçant les bactéries dans cette fonction. Malheureusement, les travaux de JENSEN étaient en avance sur leur temps d'au moins vingt ans ; les résultats, publiés en langue danoise et dans un journal de médecine vétérinaire, étaient lus par peu de botanistes et les vétérinaires ont trouvé peu d'intérêt à une maladie étrange de la betterave.

Ces travaux sont restés à peu près inconnus. Nous savons maintenant que JENSEN avait raison. J'attire l'attention ici sur ces faits seulement pour faire remarquer qu'il n'existe aucun groupe d'organismes complexes, animaux ou végétaux qui échappe à cette maladie.

Il n'existe pas non plus d'organes du corps ni de type de cellules, chez l'homme ou chez les animaux, qui échappent. Des tumeurs des muscles, des rhabdomyosarcomes, sont rares mais pas inconnues. Chose curieuse, la paume de la main et du pied ne sont que très rarement le siège de cancers primaires. Même les dents se trouvent quelquefois frappées et les adamantinomas — des dents anormales qu'on trouve dans les muscles, les os, le cerveau etc., sont parmi les manifestations les plus spectaculaires et les plus affreuses de la maladie. Il n'existe pas, bien entendu, de cancers des parties inanimées ; les cheveux, les ongles, Mais à part ces exceptions, toute partie du corps se trouve frappée. Néanmoins, il y a des prédilections. Chez les femmes ce sont les organes reproducteurs primaires et secondaires : les seins, les ovaires, l'utérus et le col de l'utérus qui sont de préférence atteints ; chez l'homme c'est la prostate, les poumons et le système digestif.

Le cancer frappe aussi à tout âge. Plus commun chez les vieillards (et je crois que dans ce fait nous reconnaitrons plus tard une suggestion de l'origine possible de la maladie) il n'est pas du tout limité à la vieillesse. La leucémie, cancer des cellules blanches du sang, est fréquente chez les adolescents. Les melanomas fulgurants des enfants sont d'un développement particulièrement rapide et les rétinoblastomes souvent unilatéraux et les néphromes aussi souvent mortels sont comptés parmi les maladies les plus graves des nouveaux-nés.

On sait qu'il existe aussi des métiers qui prédisposent au cancer. Comme cancer professionnel, un des plus anciennement connus est le cancer du scrotum, qui, en Angleterre au XVIII^e siècle était presque épidémique chez les hommes de 20 à 30 ans qui, enfants, avaient été ramoneurs. Ce délai de dix à vingt ans entre l'excitation et le résultat final est quelque chose qu'il va falloir examiner de plus près ultérieu-

rement. Les matelots sont souvent frappés du cancer de la bouche et de la peau du visage et des mains. Les paysans du Cachemire souffrent d'une tumeur particulière à l'extérieur du ventre. Les travailleurs dans les usines de produits à base de goudron ont souvent des cancers aux aisselles. Le cancer de la vessie est fort commun chez ceux qui travaillent les colorants d'aniline; et l'incidence élevée du cancer du poumon chez les fumeurs de cigarettes est un sujet actuel du plus grand intérêt.

Mais tout ceci ne me semble pas nous avancer beaucoup dans notre recherche d'une réponse à la question « Qu'est-ce que le cancer? ».

C'est une maladie qui frappe toutes sortes de plantes et d'animaux aux structures et aux fonctions complexes. Il frappe toutes sortes de tissus, à tous âges et à tout étage de l'ontogenèse. Il est caractérisé surtout par des traits négatifs : son incapacité à être soumis à des règles quelconques. Les cellules cancéreuses prenant naissance dans des tissus normaux bien intégrés perdent, aussitôt qu'elles acquièrent le caractère de cancer, toute intégration. Elles ne répondent plus aux contraintes imposées par le corps. Seule la désintégration totale du corps dans la mort peut mettre fin à leurs progrès. Elles sont désordonnées, dérégées, anarchiques.

Mais dans tout leur comportement anarchique, elles ne sont pas complètement étrangères. Un adamantinoma reste une dent, même quand il se trouve au milieu du muscle d'un bras ou dans la moëlle du fémur, et c'est toujours une dent de l'homme. L'épithélium du poumon est toujours cilié même quand il s'est métastasié au cerveau. Le teratoma testis fabrique les muscles du cœur doués de contractions rythmiques tout à fait caractéristiques. Une des tragédies du cancer est le fait que le corps ne réagit pas à sa présence, ne fait aucun effort pour le rejeter. Le cancer n'est pas un corps étranger, mais quelque chose que les tissus normaux reconnaissent comme propre à eux. Du point de vue sérologique, chimique, immunologique, la cellule cancéreuse est tout à fait chez elle. C'est seulement par ce qu'elle fait ou ne fait pas qu'elle devient dangereuse.

La cellule est changée, mais peu, dans des directions et des façons limitées, mais fatales. Le changement ou les changements sont tels que les capacités vitales ne sont pas sérieusement délabrées, elles sont même souvent fortifiées; seules les caractéristiques de l'intégration sont détruites. La cellule a perdu sa politesse mais pas ses appétits. Elle ne cesse de se propager, de croître, de se déployer, dans des conditions et en des endroits où ses semblables normales et non cancéreuses seraient

restreintes dans leur comportement. C'est par suite de cette multiplication déréglée que se soulèvent ces masses désorganisées, bien que pas toujours dépourvues d'organisation, que nous appelons les « tumeurs ».

Ces changements ne sont pas de simples modulations de forme produisant des sarcomes à cellules en fuseau ou des carcinomes épithélioïdes et compacts; ce sont surtout des altérations de métabolisme. **WARBURG** pensait trouver un changement dans le comportement anaérobie de quelques cellules cancéreuses. Il envisageait la cellule cancéreuse ravageant des voisines normales grâce à cette capacité de prospérer sous des conditions peu appropriées à la respiration des cellules normales. Cette idée n'a pas résisté à un examen attentif; on a trouvé beaucoup de cellules normales à respiration anaérobie, les cellules du *nephros embryonnaire* par exemple, qui ne sont pas et ne deviennent pas cancéreuses. Je pense que nous serons plus près de la vérité en envisageant le changement cancéreux comme une augmentation de capacité métabolique dans des directions sans spécification, sans nous limiter à l'augmentation de capacité respiratoire sous des conditions anaérobies, un aspect de la respiration qui était, en effet, particulièrement cher à **WARBURG**. Un cas semblable, et je le trouve instructif, fut étudié à la Sorbonne même. Il est question du phénomène que **M. GAUTHERET**

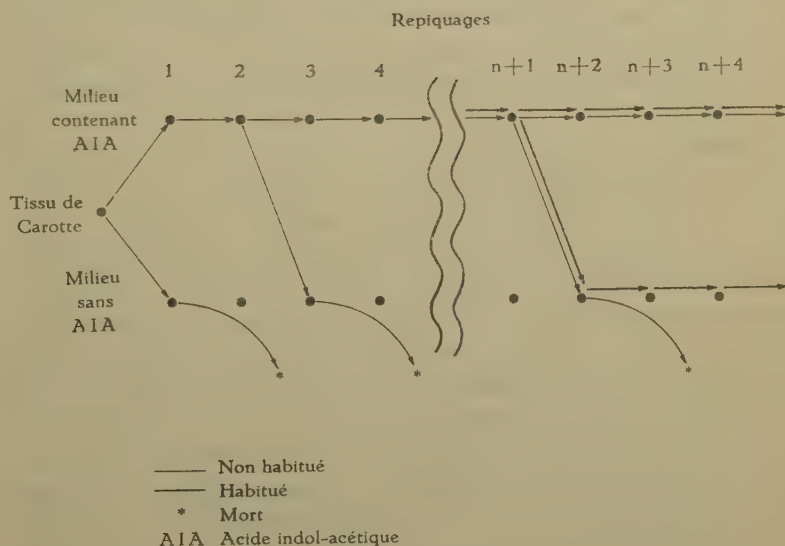


Fig. 2. — Développement, dans les cultures de tissus de carotte, de l'autonomie vis-à-vis de l'acide indol-acétique.

a appelé l'« anergie » des tissus végétaux cultivés *in vitro*. La cellule végétale dépend pour sa croissance d'une provision externe d'une substance particulière, l'auxine, l'acide indol-acétique. Au moment du premier repiquage, il faut en général ajouter de l'auxine au milieu, mais au cours de la culture quelques souches peuvent perdre subitement cette dépendance en devenant capables d'en fabriquer elles-mêmes. Décrit pour la première fois pour l'acide indol-acétique, une « anergie » semblable fut reconnue plus tard pour les vitamines, en particulier la biotine et l'acide pantothénique, par MOREL. Le principe est le même pour l'oxygène de WARBURG, l'auxine de GAUTHERET ou la biotine de MOREL — une augmentation de capacité de synthèse de la cellule, qui libère la cellule de sa dépendance vis-à-vis d'un facteur environnant. Dépendance et indépendance, intégration et désintégration sont les faces opposées de la médaille qui est la vie.

La cellule cancéreuse est alors une cellule qui a subi un changement subtil de métabolisme, changement qui la rend capable de survivre et de croître dans des circonstances qui limiteraient la croissance et les fonctions des cellules normales de la même race. Cette libération des contraintes permet à la cellule d'inonder et de repousser ses voisines, de détourner la balance de la nature et finalement de tuer son hôte. Il faut toujours rappeler que la mort n'en sera pas fatalement le résultat, qu'il peut exister des circonstances de milieu qui empêchent la mort ou l'amènent pour d'autres raisons; le fait important, c'est que, dans un milieu convenable et tout à fait normal, ces caractéristiques peuvent émerger.

LA CELLULE — SON CARACTÈRE UNITAIRE

Nous avons dit que le cancer ne frappe pas, comme la plupart des maladies infectieuses, tel organisme, tel tissu ou tel système physiologique; le cancer est une maladie particulière aux cellules. C'est une maladie dans laquelle les influences dirigeantes, les contraintes qui d'ordinaire contrôlent la tenue des cellules, leurs interactions et leurs rapports avec le milieu externe, ont perdu de leur force. Par suite de l'absence de ces contraintes, les cellules atteintes se comportent d'une façon anarchique, sans direction déterminée. Le cancer présente ainsi deux aspects distincts. C'est une maladie qui frappe la cellule comme individu; mais c'est également une maladie qui ne peut s'exprimer que dans le cadre de certaines charpentes anatomiques et physiologiques. La faillite des freins du système est un aspect aussi important de la maladie que la tenue anarchique des cellules qui se trouvent libérées par cette faillite.

Que sont, dès lors, ces cellules, dont la méconduite fait de cette maladie l'une des plus redoutées que nous connaissions?

Nous connaissons tous, d'une façon générale, ce que c'est qu'une cellule. C'est le dénominateur le plus simple de la vie. C'est au fond, un noyau, son cytoplasme environnant avec un certain nombre d'organites caractéristiques, le tout entouré d'une membrane biologique. Si l'un de ces trois membres manque, ce qui reste sera incapable de mener une vie complète. Un noyau isolé est incapable d'élaborer les matières nutritives nécessaires pour maintenir la vie. Il peut se diviser mais ne peut pas croître; il ne peut que se consumer. Une masse de cytoplasme isolée peut accomplir des processus métaboliques mais ne peut pas réaliser les étapes nécessaires à sa duplication; elle peut croître, mais ne peut pas se diviser. La membrane, sans cytoplasme ou noyau, est complètement inerte, incapable de croissance ou de reproduction bien que douée de toutes les réponses orientées, chimiques et physiochimiques, qui sont ses propriétés fondamentales. Les plastes et les mitochondries peuvent remplir des fonctions enzymatiques limitées mais sont incapables de croissance ou de duplication hors de leur substratum normal. Seule la cellule complète peut supporter tous ces processus. Et chaque cellule complète est théoriquement capable de tous les processus de la vie. La cellule est un organisme complet.

Une colonie de bactéries, ou de protozoaires, une algue simple comme un *Protococcus*, le plasmode d'un Myxomycète sont constitués d'un groupement lâche de cellules qui ont chacune des capacités et des fonctions identiques. Chaque cellule est en compétition sur un pied d'égalité avec chaque individu du groupe. Il n'y a ici aucune organisation sociale. Chez les algues vertes un peu plus évoluées et chez les invertébrés coloniaux, une organisation commence à émerger. Si nous considérons une colonie de *Volvox* ou un Coelentéré comme *Hydra*, nous trouvons des cellules qui sont toutes égales dans leurs capacités fondamentales; néanmoins les fonctions de locomotion, de soutien et de reproduction sont déléguées à des individus particuliers, choisis, semble-t-il, d'une façon tout à fait fortuite par leur situation dans la colonie. Chaque cellule *peut* prendre la fonction de chaque autre cellule. La réorganisation du Coelentéré après désagrégation de ses cellules est une preuve frappante de ce fait. En allant de plus en plus haut dans l'échelle évolutive, la complexité d'organisation devient de plus en plus prononcée si bien que, chez la souris, il sera difficile de reconnaître la ressemblance entre, par exemple, la cellule ciliée épithéliale du poumon et le leucocyte ou, chez le tabac, de trouver une comparaison facile entre la cellule glandulaire de la feuille et la cellule-mère du grain de pollen. Elles ne semblent comparables que dans le fait qu'elles possèdent toutes un noyau, une membrane extérieure, un protoplasme et quelques inclusions spéciales. Un organisme, quelle que soit sa complexité, est au fond une colonie, une société intégrée, constituée de cellules, dans laquelle chaque individu conserve une mesure considérable, bien que limitée, d'autonomie potentielle, une autonomie qui peut ou non être déclenchée par des conditions extérieures. SCHLEIDEN, il y a cent-vingt ans, a exprimé cette vérité d'une façon remarquable quand il a fait observer que, dans un organisme complexe, chaque cellule possède la même sorte d'individualité que l'abeille dans son essaim; les individus ne sont pas capables d'une vie complète, ne sont pas capables même de survivre longtemps isolés de l'essaim; une abeille solitaire ne peut pas produire une autre abeille, seul l'essaim est l'organisme vraiment complet, capable de vivre, de croître, de se reproduire; néanmoins personne ne niera l'individualité d'une abeille. L'homme aussi, ou l'arbre, est un organisme, bien que chaque leucocyte, chaque cellule du mésophylle foliaire est lui aussi un individu, capable d'une vie normale si nous le transportons dans un autre organisme de la même espèce, mais incapable à lui seul d'une fonction complète. La cellule est l'individu fondamental et la vie d'un organisme complexe consiste en l'intégration

sociale plus ou moins complète de millions de ces individus, chacun prenant naissance, accomplissant sa croissance, ses fonctions et mourant comme un individu. Même dans un organisme où la plupart des cellules sont saines et bien intégrées, il peut exister des individus malades ou qui ne peuvent pas bien fonctionner comme unités sociales.

Du point de vue biologique, ces unités fondamentales que sont les cellules peuvent être considérées de plusieurs façons. Leur rôle reconnu le premier fut celui d'unités de structure. Si nous déchirons un organisme pour arriver à des morceaux de plus en plus petits, nous trouvons ces morceaux constitués de plusieurs sortes de cellules, interdigitées dans une ordonnance compliquée, chacune s'acquittant d'une fonction spéciale. Ces fonctions peuvent être reconnues, ou au moins déduites de la structure et de la forme des cellules. Quelques-unes, par exemple celles de l'os, du cartilage et des tendons, forment et interlient le squelette structural du corps. Chez les insectes, ce rôle est délégué à l'exosquelette chitineux; chez les plantes, au bois et au sclérenchyme. Une autre série de cellules protègent les viscères contre les blessures ou augmentent les capacités de l'organisme de répondre et de se réajuster rapidement à des changements du milieu ambiant; ainsi les épithéliums kératinisés des animaux et les assises cutinisées des plantes protègent les tissus mous sous-jacents; les épithéliums tactiles, sensitifs ou sécrétoires servent d'intermédiaires entre ces mêmes tissus mous et le monde externe. Ceux-ci à leur tour sont aidés dans leur rôle par les nerfs qui reçoivent, transforment, élaborent et transmettent la foule de messages essentiels à la relation des différentes parties du corps entre elles. De ce point de vue, le corps est une machine compliquée; les cellules sont les bâtons, les cliquets, les crans, les chevilles et les fils qui la constituent. Bien que la machine ait pour but le travail, ces crans et chevilles n'en sont pas moins réels, même quand la machine n'est pas en marche. Ce point de vue, le point de vue structural seul, est essentiellement un point de vue statique.

Mais une machine en marche est quelque chose de plus qu'un assemblage de chevilles et de crans; nous pouvons considérer chaque cheville, chaque cellule du point de vue de son rôle dans le travail. Quels sont les processus qui se déroulent à l'intérieur d'une cellule musculaire, qui déterminent le raccourcissement de cette cellule qui, à son tour, va tirer l'élément structural attaché, l'os, d'une position à une autre? Quels sont les processus qui, mis en marche dans les cellules épithéliales d'un tubule du rein, sont responsables du mouvement de l'eau à l'intérieur du tubule, à travers la cellule de l'épithélium, dans le

capillaire sanguin, même contre l'opposition représentée par un gradient osmotique assez important et contre la pression hydrostatique du sang? Dans tous ces processus la *cellule* est l'unité physiologique, active, dynamique. Une cellule désœuvrée peut avoir une signification structurale — elle n'a aucune signification physiologique.

Et en troisième lieu, bien que le corps vivant soit une machine, c'est une machine tout à fait différente de celles qui sont fabriquées par l'homme. La machine vivante est au commencement une unité simple, l'œuf fertilisé. Cette unité se divise d'une façon ordonnée pour produire une série de cellules qui sont, au commencement, toutes semblables par les dimensions, la forme, la fonction et les potentialités intrinsèques. Cette uniformité ne dure pas longtemps; le corps, la machine s'élabore progressivement par orientation, réajustement, remplacement. C'est quelque chose qui se développe. Il n'est pas question simplement d'une construction faite d'une myriade des parties distinctes en structure et fonction, comme sont les parties des machines fabriquées par l'homme; même les arrangements par lesquels ces parties sont réunies changent d'un instant à l'autre. Des figures, des structures, des fonctions, des interrelations nouvelles émergent constamment dans une progression kaleïdoscopique et dynamique. La cellule est une unité de *développement* dynamique autant qu'une unité dynamique de fonction et une unité statique de structure.

Ces trois points de vue vont déterminer les méthodes par lesquelles nous pouvons étudier les cellules. Leur aspect structural, statique, bien que multiforme, peut être étudié à loisir par les méthodes de l'histologie classique : la macération, le broyage, la digestion incomplète, les coupes en lames, la coloration, et par les traitements microchimiques et physiques. L'optique moderne nous a donné des instruments puissants. Le contraste de phase, la microscopie d'interférence nous permettent de vérifier, de soutenir ou de rejeter les images que nous ont montrées les techniques anciennes de fixation et de coloration. Les colorants vitaux et les traitements chimiques ajoutent encore à notre connaissance. Et la microscopie électronique, de rayons X et de réflexion, nous montrent des détails de structure insoupçonnés, qui peuvent être coordonnés aux fonctions. Qui aurait pensé que tous les flagelles de la muqueuse nasale de l'homme, des trachées d'un insecte, du cytopharynx d'un protozoaire, du spermatozoïde d'une fougère, celui d'un *Volvox* ou d'une bactérie soient tous bâtis sur un seul plan, de onze cordons, neuf dans un cercle entourant deux autres au centre, ces deux derniers étant responsables de l'asymétrie qui détermine à son tour

l'orientation spéciale du mouvement contractile qui dirige les déplacements généraux? Quelle évidence extraordinaire de l'efficacité de la sélection darwinienne que ce dessin particulier, se montrant comme le

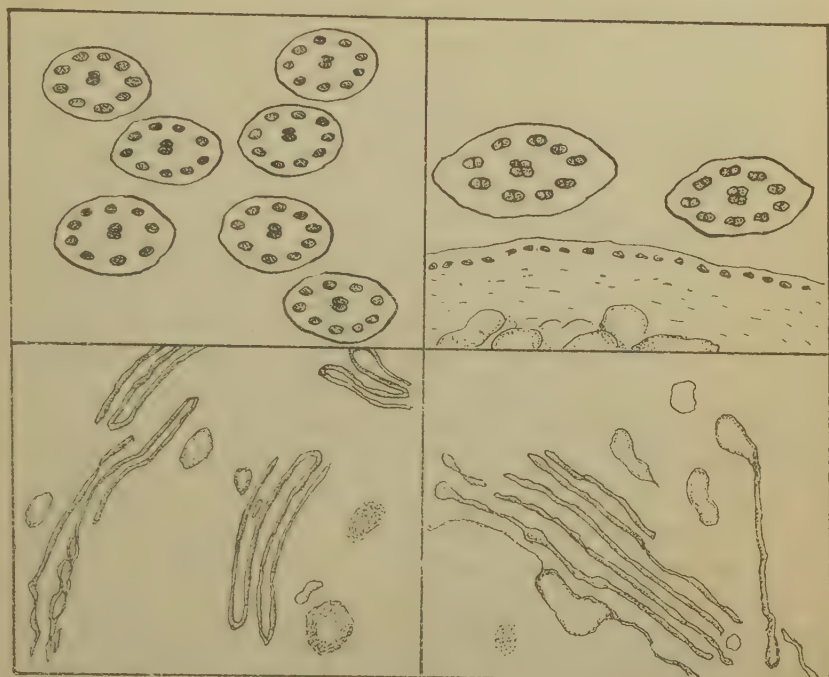


Fig. 3. — Comparaison des détails cytologiques chez des animaux et des végétaux.

En haut, transsection des cils, à gauche dans la paroi intérieure de l'oviducte du chat, d'après FAWCETT; à droite dans le spermatozoïde d'une mousse, *Sphagnum*, d'après MANTON.

En bas, appareil Golgi, à gauche dans le spermocyte du cobaye, d'après FAWCETT; à droite dans la racine d'*Allium*, d'après BUVAT.

Photos par microscope électronique; grandissement : environ 65.000 X.

plus efficace dans toute une série d'étapes sur le sentier de la phylogénie! C'est rassurant comme preuve de l'ordre universel, de l'obéissance à des lois relativement simples, que le même arrangement de lamelles pliées que nous reconnaissons chez la cellule glandulaire de l'homme sous le nom d'« appareil de Golgi » se retrouve avec tous ses détails dans une micrographie électronique du méristème apical d'un *Chrysanthème*? Aux niveaux cellulaires et sous-cellulaires, les différences fondamentales sont en vérité minuscules.

Néanmoins ces ressemblances significatives ne dépendent aucunement de la division des organismes en cellules. Les méthodes d'étude de structure sont des méthodes statiques. Nous n'avons pas besoin de la culture des cellules ou des tissus pour étudier ces aspects des organismes ou des cellules.

Les cultures des cellules ne sont pas non plus essentielles pour l'étude des cellules comme unités physiologiques. Chaque processus physiologique résulte de l'activité totale d'un nombre plus ou moins élevé de cellules, fonctionnant en un complexe intégré. Mais le résultat final, le processus physiologique, peut le plus souvent être le mieux étudié comme un tout. L'effusion d'adrénaline de la glande est un processus de métabolisme des cellules glandulaires, mais la mise en marche du processus est déterminée par des nerfs qui sont extérieurs à la glande, et par des influences également externes de nature endocrine. Et ces processus : impulsion nerveuse, métabolisme de la cellule glandulaire, extrusion des produits métaboliques dans le système circulatoire, peuvent s'arrêter complètement sans altérer la perfection de la cellule comme unité compétente. Tous ces processus peuvent être étudiés au moyen des coupes instantanées. C'est encore un point de vue semi-statique — pas complètement statique d'ailleurs, mais sans continuité obligatoire. Il existe certainement quelques-unes de ces questions physiologiques discontinues auxquelles la méthode de culture de tissus peut donner des réponses efficaces, mais la méthode ne sera utile qu'à un nombre restreint de ces études.

Mais il y a un troisième aspect de l'étude de la vie et de la cellule comme unité fondamentale pour lequel la culture de tissus peut être et continuera à être de la plus grande importance. Chaque organisme complexe se développe à partir d'une cellule diploïde : l'œuf fertilisé. Cette cellule englobe dans son sein l'ensemble des potentialités de toutes les structures et de toutes les fonctions du corps adulte, à tout étage de développement. Ces potentialités naissent au cours de l'ontogenèse de l'individu. Les premières cellules qui résultent de la division de l'œuf sont toutes semblables, en structure, en fonction et potentialités. Au cours du développement de l'embryon, des cellules de caractère et de fonction variés se dégagent. Les actions réciproques des cellules et des tissus, les positions variées des différentes parties par rapport au milieu ambiant, entraînent encore des dichotomies et des ségrégations. Dans ces processus de développement, chaque cellule se comporte en unité, d'importance unique, souvent remplaçable, c'est vrai par d'autres cellules de caractère semblable, mais n'enrobant jamais les résultats d'expé-

riences identiques. On ne peut pas définir les qualités, les potentialités, les expressions d'une unité dans la chaîne de développement par une sommation, et on ne peut rien en déduire. Dire que les cellules de la lèvre dorsale du blastopore représentent l'endoderme potentiel n'a aucun sens quand nous ne connaissons pas les événements qui ont déterminé qu'une cellule particulière se trouve dans la lèvre dorsale et pas au pôle végétatif, ou si nous ne savons pas si, une fois devenue endoderme, la cellule aboutira à élaborer un pancréas ou un poumon. Les processus de développement sont dynamiques, continus et individualisants. Nous ne pouvons les étudier effectivement que par des méthodes qui nous permettent de suivre d'une façon ininterrompue chaque cellule-unité dans tout son comportement. La technique de transplantation pratiquée par les embryologistes expérimentaux représente un pas dans cette direction. Elle a déjà cédé la place à la culture des tissus chez les animaux et celle-ci commence à trouver aussi des applications à l'étude de la morphogenèse des plantes. C'est une méthode d'expérience au niveau cellulaire. Son but est l'analyse, en termes dynamiques. L'histologie a cédé la place à l'histogenèse expérimentale, l'embryologie à des expériences du réaggrégation de cellules et de masses de cellules, la cytologie à la culture de cellules.

* * *

Revenons alors à notre premier problème : qu'est-ce que c'est que le cancer, comment l'expliquer, qu'est-ce qu'il fait, et que pouvons-nous faire pour le combattre ? Essayons d'examiner ces questions au niveau cellulaire et de les considérer à ces trois points de vue : structure, fonction et développement.

Le cancer, en tant que maladie de la cellule, peut influencer la structure caractéristique de l'organisme. Un os peut être affaibli si les cellules osseuses ne se calcifient pas comme il faut, ou si les cellules destinées à devenir un os émigrent à des autres endroits et sont ainsi résorbées, ou si l'os est mal placé, ou s'il est érodé par l'action excessive des ostéoclastes, ou enfin si des tissus d'origine étrangère sont déplacés dans l'os. L'épithélium protecteur sera inefficace ou fonctionnera mal si les cellules ne se kératinisent pas, ou si elles changent leur direction de croissance pour s'infiltrer dans les tissus sous-jacents. Les nerfs trouveront leurs fonctions déroutées si les neurones ne développent pas leurs propres dendrites, ou si les plaques terminales sont déplacées, ou si les cellules de Schwann se développent d'une façon trop exubérante,

étranglant les neurones, ou encore si le neurone même s'hypertrophie, ou enfin si les fibroblastes voisins pénètrent à travers la gaine de myaline pour dérouter les neurofibrilles. Une glande aussi peut mal fonctionner par déplacement, par hypertrophie ou par oblitération. Ce sont des expressions structurales du cancer.

De plus, la glande surrénale peut être rendue inactive sans déplacement ou désorganisation si les cellules *in situ* se trouvent modifiées dans leur métabolisme pour produire des substances étrangères à leur fonction normale. La maladie d'Addison, trouble de la glande surrénale, peut résulter soit de la tuberculose — déplacement de structure, soit du cancer — dérangement fonctionnel, soit encore de l'atrophie aseptique. — défaut d'origine génétique qui a des conséquences structurales et fonctionnelles. Le résultat final est le même pour l'organisme si on n'intervient pas, ou si le traitement est orienté seulement contre la symptomatologie, mais le choix des mesures thérapeutiques et le pronostic seront différents pour les trois modes d'origine. Il existe des antibiotiques contre la tuberculose qui n'entraînent pas une destruction massive de tissus, mais qui n'auront aucun effet sur le cancer, contre lequel le seul traitement effectif aujourd'hui est l'extirpation prompte et complète, tandis que contre l'atrophie héréditaire, ni la prophylaxie antibiotique ni l'extirpation chirurgicale ne produiront les résultats voulus. D'ailleurs l'hygiène générale peut diminuer la probabilité de la tuberculose mais n'aura aucun effet contre le cancer ou l'atrophie congénitale. Ces faits demandent, évidemment toujours plus, beaucoup plus de connaissances sur les aspects physiologiques du cancer.

D'ailleurs le cancer est, par excellence, un phénomène de développement. Il peut frapper n'importe quelle sorte de cellule, à chaque étape de la vie, embryonnaire ou adulte, et toute cellule ainsi frappée peut devenir le centre de propagation du mal. Chaque cellule se multipliant, si elle n'en est pas empêchée par des inhibitions extérieures, donnera naissance à une population de cellules possédant ses propres caractéristiques; une cellule s'égayant dans la direction cancéreuse deviendra le point de départ de toute une masse de cellules caractérisées par les mêmes défauts. Plus tôt cet événement se sera produit dans l'ontogénèse, plus grande sera l'importance de tissu anormal par rapport au tout, et plus troublé sera le développement normal. Ce caractère de chimère sectoriale du cancer se trouve illustré avec une netteté frappante chez l'homme par les mélanomas, et chez les plantes par les tumeurs des Epicéas que nous aurons l'occasion de considérer plus loin et de plus près. Ces troubles locaux et sectoriaux ne sont pas, bien

entendu, toujours malins. Souvent on peut les attribuer à des aspects tout à fait normaux du développement ou à des accidents qui sont inévitables dans tout processus ontogénétique dans lequel le temps et les variations sont si importants.



Fig. 4. — Caractère de chimère dans les tumeurs; d'un insecte, d'après SCHARRER; d'un poisson, d'après GORDON et d'un arbre, d'après WHITE.

C'est précisément dans ces aspects de la vie, les aspects dans lesquels le temps est un élément de grande importance, que les méthodes statiques de l'histologie et les méthodes discontinues dans le temps représentées par la physiologie classique, se montrent insuffisantes. Pour l'étude du développement, de sa progression normale et des troubles qu'il peut subir, il faut suivre les événements d'une façon continue, appliquer une sorte de calcul intégral, considérer chaque fonction non pas comme un fait déterminé mais plutôt comme un processus qui tend vers une direction déterminée à partir d'un point quelconque de référence. On peut mieux arriver à développer ce point de vue par les méthodes de culture de cellules ou de tissus, donc en suivant le comportement des cellules, des races de cellules, des tissus et des organes à des degrés variés d'isolement. C'est en considérant le cancer comme phénomène de développement que cette méthode peut apporter ses contributions les plus importantes. D'ailleurs, en dehors de ces contributions à la pathologie maligne, la culture de tissus peut ajouter quelque chose peut-être même d'importance plus grande. L'étude des cultures de tissus, plus qu'aucune autre étude, je pense, peut évoquer en nous une compréhension des qualités dynamiques des organismes

en tant que sociétés intégrées d'unités indépendantes. Prenons trois exemples.

On dit qu'une table n'est, en réalité, qu'une galaxie de molécules en mouvement perpétuel entre des limites établies par leurs champs d'attraction particuliers. Il n'existe encore aucune méthode pour *voir* ces mouvements. Mais quand nous disons qu'un organisme, un homme ou un chêne, sont également des galaxies de cellules, dont beaucoup se trouvent elles aussi en mouvement perpétuel entre des limites particulières, on peut démontrer cette assertion. Entre les éléments structuraux des os, des fibres fixes mais contractiles d'un muscle, des nerfs avec leurs orientations exactes, et entre les cellules sécrétrices d'une glande, il existe un tissu d'emballage que nous appelons le tissu conjonctif, constitué de cellules qui sont toujours en mouvement de-ci de-là. Nous possédons, dans la culture de tissus, le moyen d'extraire ces cellules de l'organisme, de les faire croître, de suivre leurs mouvements et leurs divisions pour produire des cellules nouvelles. La superficie du poumon est revêtue d'une couche de cellules ciliées qui produisent un mouvement ininterrompu de l'air ambiant, même dans des endroits non atteints par les déplacements de l'air respiré. On peut prélever des morceaux de poumon, les cultiver de façon à mettre en évidence les mouvements de ces cils qui donnent à la masse isolée un déplacement de rotation, ce qui prouve d'une manière frappante leur caractère dynamique. Les cellules des plantes, encore plus passives d'après notre connaissance quotidienne, peuvent elles aussi être cultivées. Nous pouvons les mettre sous l'objectif du microscope pour vérifier leur dynamisme de telle sorte que, quand on les a observées une fois, on ne peut plus jamais les considérer comme des êtres inertes et dépourvus de sensations.

Les organismes sont en vérité des sociétés complexes, dont les citoyens sont les cellules. Chaque cellule a sa place particulière, obéissant à une liste de règlements exactement ordonnés. Quand une cellule s'égare, cesse d'obéir à ces règles, s'oppose aux activités ordonnées des autres, apparaît l'anarchie que nous appelons maladie, et surtout le cancer. Ceci, dès lors, est l'aspect particulier du cancer sur lequel nous devons concentrer notre attention.

QU'EST - CE QUE LA CULTURE DES TISSUS?

La culture de tissus ou de cellules est, en fait, la méthode par laquelle nous isolons des cellules ou des organes d'organismes complexes, les mettons dans des conditions artificielles, établissons les milieux qui suffisent pour maintenir leur survie et leur fonction sur un niveau déterminé. Nous simplifions ces milieux autant que possible, nous les altérons progressivement, nous y introduisons des facteurs nouveaux, nous réintégrons des cellules dans des combinaisons nouvelles d'une complexité croissante, tout cela pour comprendre autant que possible la vie. On peut appliquer cette méthode non seulement à des cellules séparées mais aussi aux tissus, organes et systèmes d'organes à n'importe quel niveau d'organisation, sauf à l'organisme complet. Même l'œuf d'un organisme vivipare en cours de développement constitue un matériel d'étude. Nous limitons en général le nom « culture de tissus » à des cultures de quelque durée, capables, en théorie, de continuer indéfiniment. Nous ne l'appliquons pas à un cœur en perfusion pendant quelques heures ou même quelques jours; c'est néanmoins la même sorte de technique, extension dans la direction d'une fonction normale, plus prolongée, plus simple, plus schématique.

Cette ultra-vivisection — car, dans la culture de tissus, la vie, les fonctions, nous pouvons même dire « le bien-être physiologique » des parties isolées, peuvent en théorie devenir éternelles — peut nous fournir des matériaux pour une variété énorme d'études.

La première étude productive de ce genre est sortie d'une controverse amère qui s'est développée pendant la dernière décade du dix-neuvième siècle et les premières années de celui-ci, sur l'origine des fibres qui relient la cellule centrale d'un nerf, situé dans le cerveau ou dans la moelle épinière, avec son organe récepteur : fibre musculaire, glande ou tache tactile de la peau. Le neurone central et la plaque ultime sont souvent loin l'un de l'autre, et le seul lien visible n'est qu'un fil sans structure évidente. La cellule centrale est évidemment une cellule complexe avec son noyau, son protoplasme massif et ses inclusions caractéristiques, surtout les corps de Nissl. D'où vient ce fil? Est-il filé par le neurone à travers toutes les résistances et les inégalités des tissus, à une distance qui, chez le nerf sciatique d'un homme peut atteindre la valeur incroyable de 70 à 100 cm ou chez la girafe même 3 mètres?

Où est-ce que le neurone et la cellule réceptrice filent chacun leur propre fibre qui se rejoignent avec précision en un point particulier entre les deux? Ou le fil est-il formé dans les tissus intermédiaires sur quelque voie prédéterminée? Les anatomistes avaient bien décelé l'existence de ces fils mais ils n'ont pas pu établir par leurs coupes et leurs études de matériel fixé une explication satisfaisante des faits observés.

Evidemment on peut donner une réponse à cette question si on peut extraire un neurone vivant pour voir s'il est capable de filer des fibres dans une matrice artificielle, c'est-à-dire si on peut le traiter comme un individu en fonction active pour voir comment il se comporte comme individu quand l'individu n'est pas influencé, limité ou restreint par aucun autre individu compétitif de même nature ou d'une autre et que notre façon de voir n'est pas obscurcie par des éléments gênants.

Il y a des personnes capables de voir un problème dans ses éléments les plus simples et d'imaginer les méthodes les plus utiles pour l'aborder. ROSS HARRISON était doué de ce génie quand, il y a 53 ans, il a isolé le neuroblaste d'une grenouille, l'a placé dans une goutte de lymphe coagulée servant de milieu nutritif et suivit alors le déve-

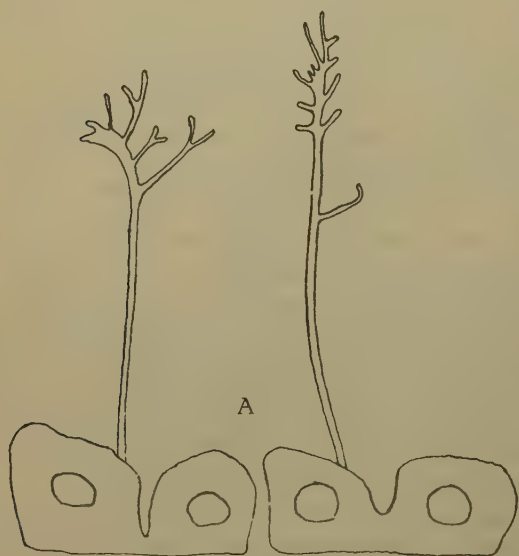


Fig. 5. — Dessins faits à un intervalle de 50 minutes, de deux neuroblastes de grenouille cultivées en goutte pendante, d'après HARRISON, 1906.

loppement des fils dont les terminaisons s'étaient divisées, ramifiées et qui, en retirant leurs processus latéraux, ont cherché leur voie à travers le caillot avec des plaques terminales qui calquaient exactement celles qu'on avait vues au contact anatomique avec des cellules musculaires ou des glandes. La réponse à la question posée, fut immédiate et claire. HARRISON publia deux notes brèves, un seul article descriptif plus détaillé et une seule mise au point étendue et bien raisonnée pour soutenir sa thèse. Il n'est jamais revenu à ce problème et n'a plus employé la méthode qu'il avait introduite. Néanmoins, cette série de quatre publications a établi une base solide pour l'une de nos disciplines les plus importantes dans la biologie d'aujourd'hui. La culture de tissus sera à jamais un monument au génie de Ross HARRISON.

On peut même aborder par ce moyen des problèmes qui englobent des questions de mœurs humaines. Nos lois et nos codes moraux ne nous permettent pas de tenter sur des êtres humains des expériences qui peuvent être fatales, sauf quand l'expérimentateur se prend lui-même pour sujet. Expérimenter sur soi-même peut être une bonne idée. Employer des « volontaires » humains a, évidemment, contribué d'une façon importante à la résolution de quelques problèmes, par exemple la transmission de la fièvre jaune (Walter REED et ses associés) mais cette dernière question était telle qu'elle aurait pu être résolue par des expériences sur un petit nombre ou même sur un seul sujet. D'autres problèmes ne sont pas aussi simples. Les maladies à virus chez l'homme ont résisté longtemps à l'étude, par manque d'animal d'expérimentation sensible à ces maladies. La poliomyélite en fournit un exemple. Dès le commencement de ce siècle il était assez évident que la poliomyélite était une maladie à virus, mais on a cru longtemps qu'il n'existait que deux hôtes pour cette maladie : l'homme, sur lequel on n'osa pas expérimenter, et le singe, animal coûteux et difficile à manier. Plus tard on a trouvé que le virus peut être transmis à la souris par voie intracérébrale des nouveaux-nés, mais la maladie ainsi produite était loin d'être typique. Il n'est sorti que peu de chose des expériences prolongées sur des singes et sur des souris. Finalement, il y a à peine une dizaine d'années, plusieurs investigateurs ont reconnu qu'il serait peut-être possible d'enlever des tissus soit du singe soit de l'homme, de les cultiver *in vitro*, de leur inoculer le virus de la poliomyélite ou d'autres virus et ainsi d'étudier directement et en détail les relations entre hôte et parasite. Cette méthode réussit complètement et a donné un élan nouveau à l'étude des virus.

Un résultat important de ces études fut l'introduction dans la recherche médicale de la souche de cellules humaines dite « HeLa ». En 1950 une dame qui portait un nom aux initiales H. L. est venue dans une clinique de Baltimore, aux Etats-Unis. Elle souffrait d'un carcinome du col de l'utérus. On l'a opérée. Les tissus cancéreux, avec quelques fragments de tissu normal pris par biopsie furent donnés au Docteur George GEY dont le laboratoire, dans le département de Chirurgie expérimentale de l'Université Johns Hopkins, était déjà renommé pour ses recherches sur les cultures de tissus. Le Docteur GEY réussit à établir des cultures à partir de ces tissus soit cancéreux, soit normaux. Les cellules normales ont mal poussé; au bout de deux années, en dépit des soins les plus empressés, la souche fut perdue. La souche cancéreuse d'ailleurs était beaucoup plus robuste; elle a continué à se multiplier d'une façon exubérante et est devenue d'une grande utilité pour toutes sortes de recherches. Elle est maintenant distribuée partout dans le monde. Elle constitue un substratum par excellence pour les virus de la poliomyélite, de la variole, des oreillons, du coryza, etc. Les vaccins contre la poliomyélite, par lesquels on a immunisé des centaines de millions d'êtres humains pendant ces trois dernières années et qui sont responsables de la chute spectaculaire dans la fréquence de cette maladie ont été pour la plupart préparés et leurs taux contrôlés avec les cellules HeLa. Elles ont gagné une immortalité soit matérielle soit figurée. La vitalité de cette souche de cellules d'ailleurs n'était pas partagée par l'organisme d'origine; tout au contraire, la dame est morte, victime d'un cancer généralisé.

Les faits présentés par nos racines de Tomate sont assez semblables. Quelle est la durée de la vie d'une tomate en tant qu'organisme? La semence germe, devient une plante, produit des fruits, se fane et meurt, ordinairement au cours de quelques mois. En serre, on peut la maintenir plus longtemps, pendant une année, même plus. Mais si on parle de vingt-cinq ans! La souche de racines de tomate que je maintiens actuellement dans mon laboratoire est aujourd'hui dans sa vingt-septième année. Ces racines ne sont pas sorties d'une « plante » dans le sens commun du mot. Elles furent isolées d'une plantule à l'état d'embryon avec sa racine primaire, avant que les cotylédons aient fait éclater l'enveloppe, avant qu'un point végétatif soit sorti, longtemps avant la formation des feuilles. Est-ce une plante, sans tige ou feuilles? Oui, bien entendu, mais une plante seulement en train de le devenir. Cette souche de racines isolées donne une sorte d'immortalité à la plante en la divisant, en détruisant son caractère intégral.

Revenons à la question : qu'est-ce qu'une culture de tissus? Nos premiers exemples : le neuroblaste de grenouille et les cellules HeLa de l'homme sont importantes parce qu'ils font ressortir nettement le caractère primordial des cellules individualisées. Mais il y a d'autres niveaux sur lesquels les cultures de tissus peuvent être importantes. Quelquefois notre attention sera attirée moins sur la tenue des cellules isolées que sur les interactions par lesquelles elles construisent des organes et des systèmes tissulaires. Quelquefois nous aurons besoin d'étudier les essaims sans porter une attention particulière aux abeilles elles-mêmes.

Les cellules animales se prêtent tellement bien à des études des individus *in vitro* que l'attention de la plupart des savants était attirée par ce genre de recherches. Les écoles FELL-GAILLARD-WOLFF font exception. Mais les cellules des plantes ne se prêtent pas facilement à l'isolement. Pour cette raison, chez les plantes, les études des masses cellulaires, l'histogénèse et la morphogénèse ont pris plus d'importance. Les premières études prolongées dans ce domaine furent les miennes, sur les racines. Ces recherches avaient, par conséquent, un caractère relativement primitif. Prenons par exemple, les études sur les formes de racines qui caractérisent des espèces différentes.

Les racines de tomate poussent rapidement et se ramifient d'une façon modérée. Elles ont une polarité bien définie et un degré de dominance apicale moyen. Si on coupe un morceau pris au milieu d'une racine, il développera un cal uniquement sur la blessure acropétale et chaque radicelle découpée n'acquerra sa propre dominance, c'est-à-dire ne deviendra capable d'une croissance libre, rapide et sans arrêt que quand elle aura atteint une longueur d'à peu près 20 mm. Les racines du trèfle blanc elles aussi poussent rapidement, mais elles ne se ramifient que beaucoup plus tardivement. Elles possèdent une dominance apicale plus accentuée; une radicelle découpée même à une longueur de 20 mm restera inactive pendant à peu près deux semaines avant qu'elle puisse établir sa propre dominance et commencer à pousser. Et les racines de radis, n'ayant aucune dominance apicale poussent des radicelles précoces et irrégulières, et chaque radicelle découpée, même très courte, peut pousser immédiatement. Chez le radis il ne se développe pas de cal. Chez les Composées, par contre, par exemple le Pissenlit, nous trouvons un quatrième mode de développement. Les racines isolées des Composées poussent rarement des radicelles mais, une fois formée, chaque radicelle possède immédiatement sa propre dominance, comme chez le radis. Un morceau découpé dans le centre d'une racine développera des cals importants sur les deux blessures, et des points

végétatifs se forment dans ces cals, chose que nous ne trouvons jamais chez la tomate, le trèfle ou le radis. Nous ne savons pas encore ce que ces faits peuvent indiquer sur les mécanismes d'intégration.

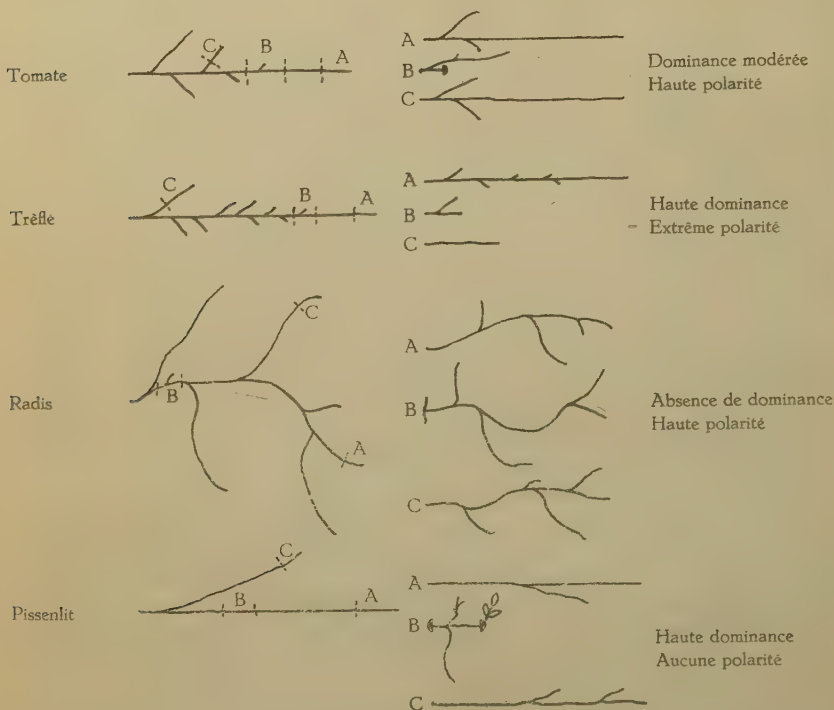
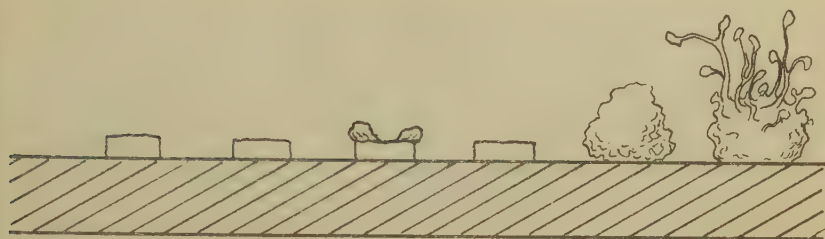


Fig. 6. — Quelques exemples de racines cultivées *in vitro*, montrant des degrés variés de dominance et de polarité, d'après WHITE.

M. GAUTHERET fut l'un des premiers à établir des cultures de tissus désorganisés. Il a ainsi insisté sur un autre aspect du problème. Avec ses élèves, il a clarifié les successions dans l'espace et dans le temps du parenchyme, du xylème, du phloème et des cambiums, soit vasculaires soit diffus, dans les tissus isolés de plantes variées. Ces tissus sont caractérisés par des niveaux particuliers de production d'auxines et des polarités dans la distribution de ces substances; ces études descriptives ont ainsi fourni une base à partir de laquelle on peut déduire la nature des processus physiologiques qui produisent ces types de cellules variées. SKOOG a poussé la question plus loin en employant des moyens artificiels lui permettant d'agir sur la morphogenèse. Un frag-

ment de tissu de moelle de tabac mis en culture ne manifestera aucune croissance, par suite d'un niveau bas d'auxine et de kinétine, ou bien produira une masse de parenchyme sans différenciation due à une



	Milligrammes / Litre					
AIA	0	2.0	0	0	2.0	2.0
K.	0	0	0.2	0	0.2	0.2
Ty	0	0	0	2.0	0	2.0

Fig. 7. — Réponses de morceaux de moëlle de tabac à des combinaisons variées de substances qui contrôlent la croissance et la différenciation, d'après SKOOC.

activité mitotique et cambiale diffuse, indication d'une production interne non polarisée d'auxine et de kinétine. En traitant ces masses par des concentrations et des combinaisons variées d'auxine, de kinétine et d'adénine, il a pu provoquer à volonté soit des racines, soit des feuilles, soit des racines et des feuilles ou encore une croissance rapide sans organisation. Si, d'ailleurs, sans employer aucune de ces substances, nous greffons un bourgeon dans une fente creusée dans une telle masse, comme l'ont fait CAMUS et GAUTHERET sur *Scorzonera*, puis WETMORE sur le Lilas, le parenchyme indifférencié produira un ou plusieurs rangs verticaux de cellules cambiales, puis un xylème primaire, un xylème et un phloème secondaires et finalement un cambium intercalaire, tous orientés de façon à entrer en connection avec les cordons vasculaires du bourgeon inséré; ces cordons passent verticalement à la base de la masse et finalement il sort de racines de ce point; ainsi s'est produit un système vasculaire complet de racine-sauvageon-bourgeon. Et, si on remplace le bourgeon par une goutte de lanoline imbibée d'une série

de concentrations d'acide naphtalène-acétique il se produit des cordons vasculaires orientés d'une façon verticale mais distribués à des distances de la source d'auxine déterminées par la concentration de celle-ci. Si

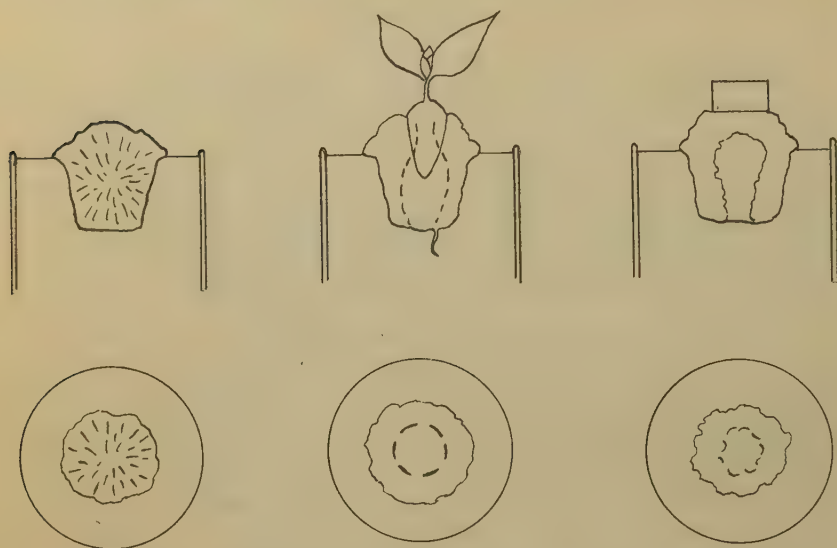


Fig. 8. — Contrôle de l'histogenèse chez le lilas. A gauche : ébauches vasculaires de la présence d'un bourgeon greffé. A droite : orientation résultant d'une source d'AIA polarisée d'en haut et limitées, d'après WETMORE.

la concentration d'auxine est faible il se développera un cordon unique au-dessous de la source d'auxine, semblable à la monostèle d'une Fougère, tandis qu'une concentration élevée d'auxine produira un anneau de cordons à quelque distance de la source, comme la polystèle d'une Dicotylédone. Ces expériences sont les mêmes et sont mêmes plus nettes que les inductions observées chez les amphibiens par les embryologistes expérimentaux de l'école de SPEMANN et dans les cultures de tissus de GROBSTEIN.

Chez les animaux aussi, on peut étudier l'organisation des masses tissulaires et les remaniements de cette organisation. Les meilleurs exemples de ces travaux viennent du laboratoire du Docteur FELL à Cambridge. Une ébauche de jambe d'un rat ou d'un poulet, prélevée et mise sur un caillot de plasma dans des conditions convenables, produira du cartilage et de l'os. Si seule la région du genou est découpée, il se développera une articulation simple et une rotule. Le plan de différenciation est évidemment établi très tôt au cours du développement

embryonnaire. Mais on peut le modifier, et au moins une de ces modifications nous donne des indications importantes sur les mécanismes de l'organisation. Si on met les os longs d'un poulet ou d'une souris sur un milieu préparé à partir d'un sérum normal, son développement suivra le cours attendu, mais si on ajoute au sérum un excès de vitamine A, on verra les cellules chondrogènes se séparer et s'entourer d'une masse gélatineuse, l'ossification ne se fera pas ou si elle est commencée elle régressera; finalement on observe une masse gélatineuse d'ostéoblastes d'apparence normale mais sans différenciation. La différenciation chondrogène dépend donc des gradients de vitamine A de même façon que la différenciation vasculaire chez le Tabac dépend des gradients de l'auxine.

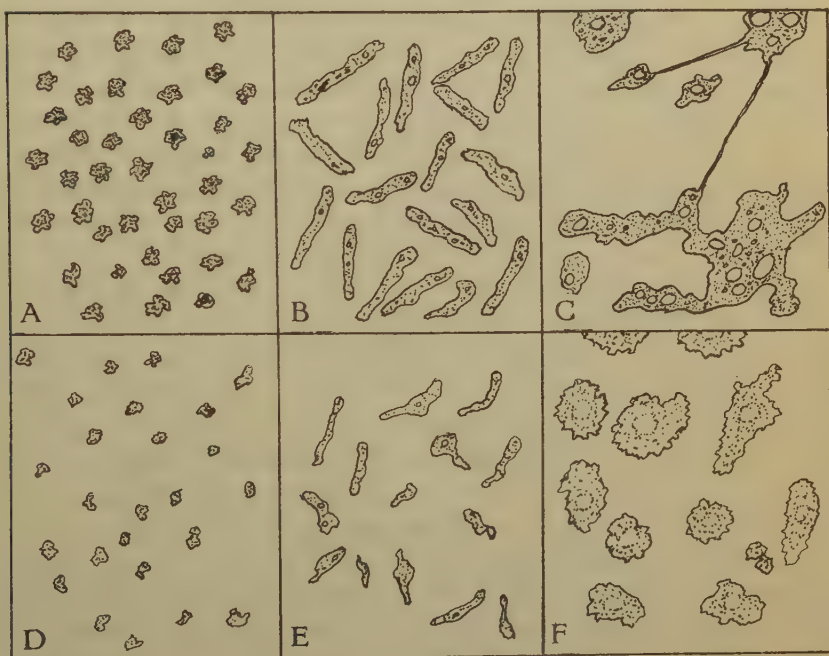


Fig. 9. — Leucocytes de poulet cultivés dans des sérums variés. A : Normal; sans orientation, sur un milieu additionné d'A1A. Centre : orientation résultant B : Additionnés de thyroxine; C : Sérum d'une volaille malade du sarcome viral de Rous; D : Leucocyte d'une volaille portant le sarcome de Rous, mais cultivés dans un sérum normal. Cet état ne dure pas longtemps; E : Leucocytes présumés normaux mais provenant probablement d'une volaille atteinte d'hyperthyroïdisme; F : Leucocytes présumés normaux, mais peut-être de nature tumorale, d'après CARREL et PARKER.

Permettez-moi de terminer sur un exemple que je trouve instructif, tiré des résultats inédits du Docteur CARREL, travaux datant de plus de vingt ans. Les globules blancs, les leucocytes du poulet prennent en général un aspect caractéristique en culture. Mais quelquefois on observe des globules aberrants dont la formation peut être induite expérimentalement. L'un de ces types est une cellule longue, en lanière. Ces cellules sont simulées par addition de thyroxine au milieu. Un autre est caractérisé par des cellules exceptionnellement larges et ramifiées d'une façon irrégulière qu'on peut stimuler en faisant pousser des cellules d'un poulet normal dans un milieu préparé avec du sérum pris sur un poulet malade du sarcome viral de Rous, un cancer assez rare. Et les cellules d'un poulet infecté par le sarcome de Rous, cultivées dans le sérum d'une volaille saine, reviendront temporairement à la figure normale. J'ai l'impression, bien que sans preuve, que quand nous trouvons chez une volaille des leucocytes en lanière, un examen plus poussé révélera probablement un état hyperthyroïdien et que la présence des leucocytes étoilés et anastomosés indiquera un cancer.

Je ne sais pas si ces faits ont déjà trouvé une application pratique dans la diagnose; peut-être ne sont-ils pas d'une validité assez générale pour cela. Mais ils y font penser!

TYPES VARIÉS DE CULTURES DE TISSUS

La culture de tissus n'est pas une véritable discipline d'étude; c'est plutôt une méthode ou un groupe de méthodes particulièrement adaptées à l'étude de problèmes complexes de la physiologie et de la pathologie. Chaque problème peut demander une méthode à soi. On a vu émerger au cours des années une série de ces méthodes qui se sont montrées d'une grande utilité pour de nombreux problèmes.

Le premier problème qui fut abordé par ces méthodes exigeait l'observation minutieuse et ininterrompue pendant des périodes assez étendues, de cellules solitaires, mais sans nécessité d'établir des colonies permanentes. Pour ces études, la méthode de la goutte pendante, employée depuis le commencement de la microscopie moderne pour l'étude des bactéries, des organismes aquatiques, des spores, des protozoaires et des globules sanguins s'est montrée tout à fait satisfaisante. ARNOLD, en Allemagne, en 1887, préparait un réservoir pour des cellules mobiles en implantant dans la cavité péritonéale de la grenouille de minces lamelles de moelle de sureau trempées dans de l'humeur aqueuse. Laissées là pendant quelques jours, jusqu'à ce qu'elles soient envahies par les leucocytes, ces lamelles étaient alors enlevées et placées dans des gouttes d'humeur aqueuse pour l'observation. Les lymphocytes migraient dans l'humeur autour de la moelle où ARNOLD pouvait les étudier à loisir. Bien que réalisés il y a 70 ans les croquis d'ARNOLD sont d'une précision étonnante. Mais les expériences d'ARNOLD représentent un tour de force, sans résultats par ailleurs.

La méthode des gouttes pendantes est un puissant moyen d'étude pour la micrographie, en raison de ses caractéristiques optiques excellentes. Du point de vue de la physiologie, par contre, elle donne moins de satisfaction. L'importance de la surface par rapport au volume de liquide augmente l'action dissolvante au contact de l'air ou du verre mou employé dans la fabrication des lamelles optiques; il en résulte une instabilité extrême de la composition chimique de la goutte. L'extraction des ions alcalins du verre et la perte de gaz carbonique dans l'air tendent toutes les deux à la production d'une réaction alcaline qui peut être nuisible. On peut éviter ceci en préparant les cultures dans une atmosphère additionnée d'un taux élevé de CO_2 , mais cette méthode exige un outillage compliqué et diminue le niveau métabolique. Nous

pouvons l'éviter aussi en renouvelant souvent la goutte, mais ceci demande beaucoup de travail et augmente les dangers d'infection. Quelquefois même les dimensions deviennent un facteur limitant. En 1929,

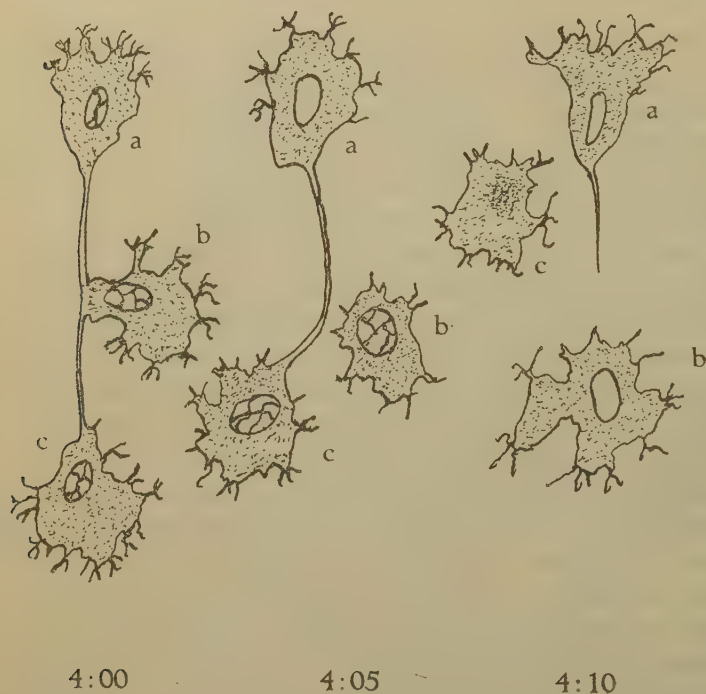


Fig. 10. — Croquis des leucocytes migrants, faits en 1887 par ARNOLD.

j'ai employé la méthode de la goutte pendante pour l'étude de la croissance des racines isolées. Ces racines ont montré une vitesse de croissance qui peut aller jusqu'à 300 microns à l'heure. Une racine peut ainsi traverser une assez grande goutte et en sortir en 24 heures; d'autre part elle épuiserait le sucre de la goutte en moins de temps. Les gouttes pendantes sont ainsi d'une valeur limitée pour des études de nutrition, pour des tissus ou des organes volumineux et pour toute observation prolongée.

Pour éviter ces inconvénients il faut avoir recours à des plus grands volumes. Mais WARBURG a déjà démontré, il y a longtemps que la distance entre la cellule ou le tissu et la surface air-liquide permettant un échange respiratoire convenable ne peut pas dépasser un demi-millimètre

environ. WARBURG résolut le problème en agitant les flacons employés pour ses études de respiration. Pour la plupart des études de cultures de tissus, nous sommes obligés de suivre nos cellules sous le microscope en même temps que nous étudions leur métabolisme; une agitation supérieure aux mouvements autonomes des cellules elles-mêmes empêche ces observations. On a dû rechercher d'autres méthodes, en premier lieu en limitant l'épaisseur de la couche nutritive dans des flacons variés assez larges. Le flacon de Carrel, introduit en 1923, et le flacon « T » d'Earle d'origine plus récente en sont les prototypes. On a eu recours très tôt à des cultures à la surface d'une couche plus profonde de gélose nutritive ou sur quelque support mécanique. Pour les tissus végétaux, il convient de mettre les cultures à la surface d'une couche épaisse d'agar dans des flacons d'Erlenmeyer ou dans des tubes à essais. Pour les animaux, on emploie de préférence des caillots épais dans des verres de montre, méthode imaginée par FELL en Angleterre, ou sur toute une variété de supports spéciaux. HELLER, à la Sorbonne, a imaginé pour les tissus végétaux des supports en papier filtre mis dans des tubes verticaux. J'ai adapté la méthode pour des tubes inclinés en pliant en long un carré de papier. Cette dernière méthode a l'inconvénient de présenter une profondeur variable de liquide et des degrés variés de saturation du papier. La position exacte du tissu sur le papier est donc importante. Pour les organes animaux, MARTINOVITCH a employé un support composé de petits bâtons parallèles en verre, mis côte-à-côte. Ici la surface du verre exposée à l'action dissolvante du liquide est trop grande. La laine de verre ou les toiles de verre ont évidemment et à un degré plus accentué le même défaut. Un support qui a eu beaucoup de succès pour les organes animaux est constitué d'un tissu fabriqué des fils de tantale, surmonté d'un morceau de papier du Japon ou de tissu de nylon, qui peut être enlevé à loisir avec sa culture de tissu ou d'organe. Quelques tissus, surtout les racines, peuvent nager à la surface du liquide, sans aucun support spécial.

Une méthode qui, bien qu'exigeant des appareils spéciaux et des manipulations exactes, a l'avantage d'éviter la plupart de ces autres inconvénients, est la méthode de perfusion qui permet un échange rapide et complet de liquide à volonté. Des chambres de perfusion peuvent être fabriquées assez minces et plates pour permettre l'observation avec les objectifs les plus exacts et en même temps utilisables pour l'échange des substances nutritives. Elles sont particulièrement aptes à la ciné-micrographie prolongée. Le système aujourd'hui le plus efficace est celui

développé par BUCHSBAUM d'après un dessin antérieur de ROSE et POMERAT.

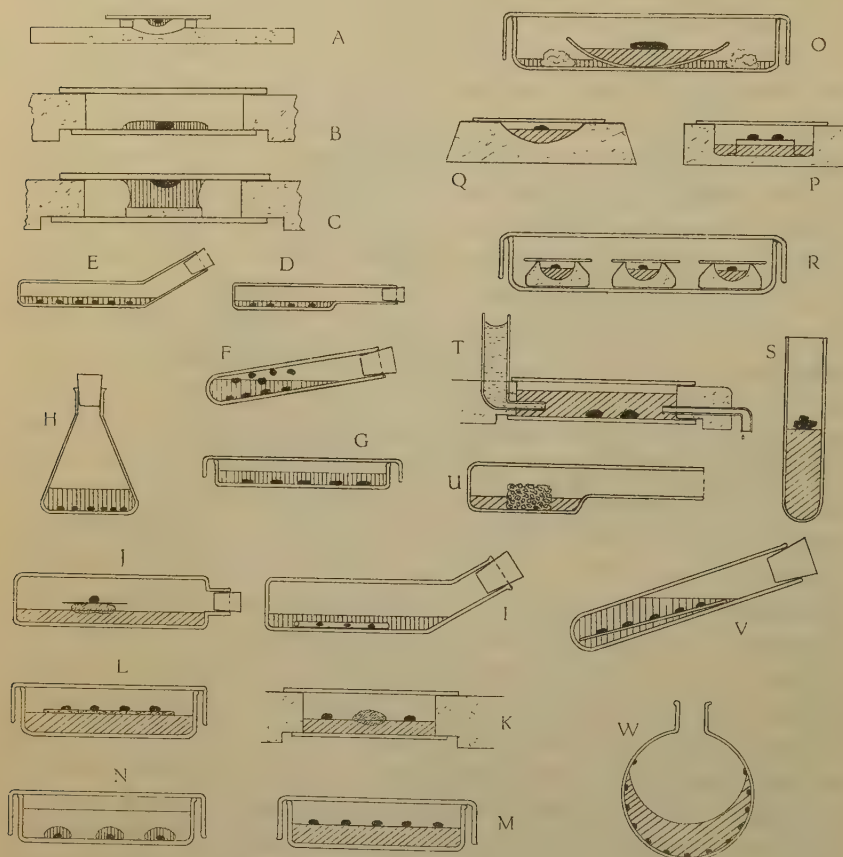


Fig. 11. — Divers types de cultures de tissus.

A-H. Méthodes générales. — A : Goutte pendante simple; B : Goutte assises; C : Goutte pendante à milieu continu, pour des études par microscopie de phase; D : Tube de Leighton; E : Boîte de Carrel; F : Tube roulant, d'après GEY; G : Boîte de Pétri; H : Flacon Erlenmeyer, d'après du BRUYN.

I - N. Méthode pour isoler des clones. — I : Culture en tube capillaire, d'après SANFORD; J : Culture sur tissu-nourrice avec interposition de papier-filtre, d'après MUIR; K : Culture des cellules uniques entourant un tissu-nourrice central, d'après TORREY; L : Culture sur une couche de cellules, inactivées par rayons X, d'après PUCK; M : Culture sur agar, pour ralentir la diffusion, d'après PUCK; N : Culture sous huile de paraffine, d'après DULBECCO.

O - R. Méthodes pour les cultures d'organes, en verre de montre. — O : Méthode

Aucune de ces méthodes, d'ailleurs, ne réalise même à peu près, les conditions physiques du corps, en particulier le support à trois dimensions et la circulation continue des fluides. Ces besoins sont satisfaits en partie, par deux autres méthodes encore. Dans l'une, on introduit des fenêtres transparentes dans le corps des animaux. Cette méthode a été développée à un très haut degré, par exemple par ALGIRE à notre Institut National de la Santé Publique à Bethesda. Une seconde méthode emploie des éponges variées, méthode imaginée par LEIGHTON. Il est intéressant de remarquer qu'ainsi nous sommes revenus à la méthode imaginée il y a 70 ans par ARNOLD. Cette méthode avait déjà le défaut de ne permettre l'observation de ce qui se passe à l'intérieur du support que par les méthodes anciennes de l'histologie. L'avantage principal de cette méthode est de pouvoir contrôler la texture du support, la vitesse et la qualité des échanges nutritifs, les qualités générales du milieu environnant, etc. Elle nous permet encore une chose : on peut ainsi confronter deux sortes de tissus dans des relations nouvelles — un cancer et un tissu normal, les tissus correspondants de deux animaux d'espèces différentes, les cellules de deux organes comme le rein et le cœur, par exemple, qui ne se confrontent jamais dans la nature.

Aucune de ces méthodes, cependant, sauf celle des plaques d'agar pour les cultures de tissus végétaux, n'est vraiment adaptée à la culture de grandes masses de cellules; et il existe des expériences pour lesquelles des masses importantes sont indiquées. Ces expériences sont surtout de deux sortes. Si nous voulons étudier en détail les aspects chimiques de la croissance et le métabolisme, et particulièrement si nous désirons isoler un matériel particulier en quantité, nous aurons besoin de cultiver les cellules en grand nombre. Un cas spécial se présente quand les cellules mêmes ne sont pas la matière importante mais représentent simplement un substratum pour les organismes parasites, comme les virus. Pour ces problèmes nous ne pouvons pas nous servir de gouttes pendantes, de couches minces, de cellules dans des boîtes coûteuses et petites comme les flacons de Carrel, ou de chambres de perfusion encore plus compliquées et coûteuses. On peut utiliser alors deux procédés. On peut préparer des cultures dans des bouteilles peu coûteuses en sacrifiant les qua-

de FELL; P : Culture sur treillis de fil métallique de SCHAFER; Q : Méthode de GAILLARD; R : Méthode de WHITE dans des verres Syracuse miniature; S : Culture de tissu végétal d'après GAUTHERET; T : Chambre de perfusion, d'après BUCHSBAUM; U : Culture sur éponge cellulosique, d'après LEIGHTON; V : Culture en tube roulant, sur couvre-objet volant, d'après POMERAT; W : Culture en ballon agité, d'après EARLE.

lités optiques. Les cellules HeLa, ainsi que beaucoup d'autres, sont cultivées dans des milliers et des milliers de bouteilles de pharmacie pour la culture des virus de la poliomyélite et d'autres virus et pour la préparation des vaccins. Pour des études purement chimiques, sans contrôle microscopique, on peut préparer n'importe quelle quantité par les méthodes d'agitation, méthodes qui nous permettent de nous passer de couches minces de liquide. On aura le même résultat en remplaçant d'une façon continue le liquide dans le « chemostat » imaginé par SZILARD pour l'étude des bactéries. De telles techniques sont employées pour des études chimiques des cellules cancéreuses à l'Institut National du Cancer (U. S. A.) et dans des études de métabolisme des cellules végétales par RIKER et HILDEBRANDT à Wisconsin, NICKELL chez PFIZER's à New York et d'autres. THOMAS, à Paris, a imaginé une méthode assez semblable. On a à peine commencé à employer ces méthodes pour l'étude du métabolisme du cancer; elles auront certainement un avenir important.

Quelles sont les matériaux avec lesquels on doit utiliser ces techniques? L'idéal fut, au moins au commencement, l'étude d'une seule cellule. Chez le végétal, les spores exceptées, les cellules isolées n'existent presque pas. Les seules unités libres que je connaisse chez les plantes ce sont les noyaux de l'endosperme et même ceux-ci se trouvent entourés d'un protoplasme continu, de caractère « syncytial ». Pour avoir des cellules séparées d'une plante, il faut les isoler par des méthodes spéciales. Mais il n'en est pas de même pour les animaux. Chez l'animal on trouve une assez grande variété de cellules libres. Les mieux connues sont les leucocytes et lymphocytes du sang (les érythrocytes ne sont pas, chez la plupart des animaux, des cellules complètes). Les cellules endothéliales des capillaires ne sont fixées que transitoirement. Les cellules gliales du système nerveux central, elles aussi, sont libres de se mouvoir. Le tissu conjonctif s'est formé de cellules dites « fibroblastes » qui peuvent devenir libres très facilement. ROUS et JONES ont démontré il y a 40 ans que même les tissus compacts comme les glandes, les muscles, le cartilage, peuvent être séparés en leurs éléments constitutifs par une digestion légère avec la trypsine. Récemment ressuscitée par MOSCONA, GROBSTEIN, WEISS et d'autres, cette méthode a donné des résultats importants. Il est possible, ainsi, par exemple, de prendre le cœur et les reins, de les désagréger, de les mélanger et d'étudier ainsi la façon dont ils se réorganisent. Les cellules de chaque organe montrent une tendance à s'agglomérer entre elles de telle façon qu'il se reforme des organes. Il existe également des organes complexes dans l'organisation desquels

la conjonction de plusieurs sortes de cellules est nécessaire. Quand, par exemple, on cultive des fibroblastes seuls, ils restent toujours des fibroblastes; les cellules de cartilage, les chondroblastes, restent eux aussi des chondroblastes. Mélangés cependant dans un complexe fibroblastes-chondroblastes, les chondroblastes se transforment en ostéoblastes et s'ossifient pour fabriquer des os. Parfois le contact intime entre les cellules de type spécial n'est pas nécessaire pour une expression morphogénétique

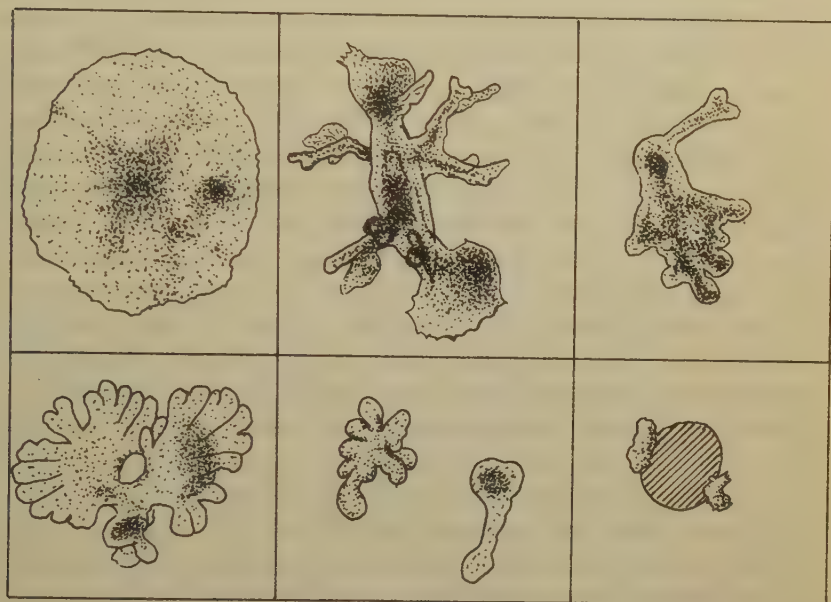


Fig. 12. — Différenciation d'épithélium mandibulaire de souris. En haut, à gauche culture sur milieu indifférent; centre, en présence d'un morceau de moëlle épinière, avec induction de tubules rénaux; à droite, induction à travers une membrane millipore qui empêche tout contact direct entre inducteur et récepteur. En bas, à gauche, culture en présence d'un morceau de tissu sous maxillaire avec induction de glande salivaire; au centre, le même, à travers une membrane millipore; à droite induction limitée par une membrane imperméable aux produits de métabolisme, mais percé d'un trou unique au centre, d'après GROBSTEIN.

tique complète. GROBSTEIN a démontré qu'on peut induire des structures glandulaires telles que celle de la sous-maxillaire ou même du néphros si les cellules inductrices sont séparées du substratum compétent par une membrane d'une porosité suffisamment fine pour que les cellules ne puissent la traverser. Mais si on remplace la membrane poreuse par la cellophane ou une autre membrane qui n'est perméable

qu'à des molécules de petite taille, on n'aura pas d'induction. Un contact physique à l'échelle infra-cellulaire est évidemment essentiel. On n'a pas encore établi si c'est une question de formation de contacts intercellulaires, de plasmodesmes ou non.

Le mélange des cellules d'organes variés suggère tout naturellement un pas en avant encore plus audacieux : le mélange de cellules d'espèces distinctes. HARRIS a montré il y a quelques années que les cellules des embryons de souris et de rat peuvent très bien croître ensemble. Elles ne montrent aucun antagonisme et forment des colonies uniformes. WOLFF, à Paris, réalisant un tour de force, est allé encore plus loin en faisant des mélanges de cellules de souris et de canard, avec un succès éclatant. On trouve ici une extension même du triage organotypique du type WEISS-MOSCONA. Si, par exemple, on mélange des cellules désagrégées d'ovaires et de reins de souris et de canard il n'en résulte pas quatre organes distincts, ni une séparation des cellules souris et des cellules canard. On aura plutôt un triage d'ovaire et de rein sans question d'espèce d'origine qui a pour résultat la formation d'ovaires et de reins mixtes, chacun étant formé d'un mélange intime de cellules souris-canard. On peut les reconnaître par des différences de taille et de pigmentation bien qu'elles coopèrent parfaitement dans leurs fonctions. Les affinités spécifiques semblent moins importantes que les affinités de fonction. Un sabotier nègre et un sabotier blanc se trouvent plus sympathiques qu'un sabotier blanc et un avocat blanc. Il existe des exemples même plus spectaculaires. BUCHSBAUM, il y a longtemps, a mélangé des fibroblastes de poulet avec des cellules d'algue verte *Chlorella*. L'algue fabriquait le sucre pour alimenter les fibroblastes, tandis que nous ne savons pas exactement le rôle des fibroblastes dans la coopération. GREENE et moi-même avons fait aussi un tour de force semblable en mettant dans la chambre antérieure de l'œil d'un lapin des cultures de tissus de tabac ; les leucocytes de lapin se sont glissés entre les cellules végétales pour réaliser un « continuum » mixte ressemblant un peu aux préparations d'ARNOLD sauf que les deux parties animale-végétale étaient toutes deux vivantes. Cette méthode commence à donner des résultats importants lorsque l'on effectue des mélanges de cellules cancéreuses et de cellules normales d'une espèce unique ou de deux espèces différentes. Malheureusement nous n'avons pas encore de méthode utilisable pour isoler et mélanger les cellules végétales. C'est là un besoin urgent pour l'avenir.

CULTURES D'ORIGINE UNICELLULAIRES — LES CLONES

Les cultures dont nous avons parlé jusqu'ici sont des cultures mixtes, originaires de masses assez importantes, donc multicellulaires. Même dans les cultures préparées par digestion à la trypsine, nous sommes en présence d'un grand nombre et, par suite, le plus souvent, d'une grande variété de cellules. De ces cultures, on ne peut rien dire de définitif quant au degré de fixation du caractère des cellules, et par conséquent on ne peut rien dire du moment, dans l'ontogenèse, où il peut survenir des divergences irréversibles. Ces questions demandent que nous suivions pendant une période étendue des cellules solitaires avec leurs descendants, c'est-à-dire que nous suivions le développement des « clones ». Ce terme désigne une souche de cellules ou d'organismes dérivés d'un seul individu par division directe, sans l'intervention d'un processus sexuel. Les exemples les mieux connus se trouvent dans le règne végétal : toutes les pommes de terre « Katahdin » sont dérivées d'une seule semence, par amorçage ; les pommes « Russet » d'une seule plante, par greffage ; les fraises « Marshall » par filiation d'une race unique. Chez les animaux, une colonie de guêpes dérivée par division polyembryonnaire d'un œuf solitaire est un clone. Malheureusement il n'existe pas de clones de mammifères ; seules les races presque homozygotes des souris « Jax » s'approchent des clones. Mais des clones de cellules de mammifères sont courants, bien que difficiles à démontrer rigoureusement. Un morceau pris par biopsie et cultivé peut se montrer être un mélange de plusieurs types cellulaires d'origines diverses. On peut démontrer l'existence d'un clone seulement si on peut établir son origine à partir d'une cellule unique. De plus, il est reconnu depuis longtemps que des cellules isolées, même des bactéries, ne se multiplient pas facilement. Il semble exister un échange réciproque obligatoire pour le bien-être des individus. On peut penser que cela vient des imperfections de nos milieux nutritifs artificiels qui ne sont pas vraiment complets ; chaque cellule doit, pour vivre, modifier légèrement le milieu nutritif qui l'entoure, c'est-à-dire doit créer une gaine mince de matière nutritive « conditionnée ». Si cette gaine conditionnée est constamment détruite par la diffusion dans un grand espace, elle ne peut pas atteindre une concentration suffisante pour fonctionner efficacement ; les gaines contiguës d'une série de cellules assez proches pour que la diffu-

sion soit empêchée, permettront une concentration de substances suffisante pour que les cellules puissent se multiplier.

On a développé au moins deux méthodes pour établir les conditions nécessaires à une concentration suffisante de substances sans l'association forcée d'un si grand nombre de cellules que l'identité individuelle soit perdue. La première méthode, développée par SANFORD, EVANS et EARLE à l'Institut National du Cancer aux Etats-Unis, est irréprochable du point de vue des résultats, mais assez difficile du point de vue technique. On prépare un milieu conditionné en cultivant un grand nombre de cellules pendant un temps assez long pour que la culture soit au maximum de sa croissance, c'est-à-dire que le milieu nutritif ne soit pas encore épuisé; les cellules sont alors enlevées par filtrage laissant un milieu clair et stérile. Une cellule solitaire de la même race est alors aspirée dans un tube capillaire de verre qu'on place ensuite dans une couche du milieu conditionné. Le volume du liquide dans le tube capillaire est suffisamment restreint pour que la cellule unique puisse facilement le modifier; la cellule alors se multiplie pour établir une colonie qui sort du tube capillaire par ses deux extrémités. Mises dans un milieu non conditionné, les cellules qui sortent du tube capillaire meurent; mises dans un milieu conditionné, ces mêmes cellules continuent cependant à se multiplier pour établir une colonie massive, un clone. Le clone de SANFORD, dénommé « clone 929 », est aujourd'hui largement répandu dans le monde.

La deuxième méthode, celle de PUCK de l'Etat de Colorado, est beaucoup plus simple mais n'est pas tout à fait irréprochable. Elle utilise le fait que des cellules traitées avec des doses modérées de rayons X continuent à mener un métabolisme presque normal même après suppression complète de leur pouvoir de croissance. Une colonie ainsi traitée peut, sans se multiplier, conditionner des volumes importants de milieu. On établit une colonie dense de cellule sur une plaque d'agar dans une petite boîte de Pétri. Cette colonie en pleine croissance est alors soumise aux rayons X pour détruire le pouvoir qu'elle possède de produire de nouvelles cellules. Une suspension diluée de cellules non traitées est alors distribuée à la surface de la colonie inactivée. Les cellules actives ont à leur disposition le milieu conditionné par la couche nourricière inactivée; chaque celluleensemencée se multiplie pour créer une colonie discrète qu'on peut transporter sur un nouveau milieu afin d'établir une série de clones. PUCK croit que, pour certaines races, le rendement peut aller jusqu'à 100 %.

PUCK a raison si l'inactivation de la couche nourricière est complète et si la présence des cellules ajoutées en pleine croissance ne peut pas parfois réactiver quelques cellules ayant subi l'action des rayons X. Il est démontré par quelques résultats que la méthode n'est pas toujours irréprochable. Toutes ces cultures ont exigé la présence d'un sérum quelconque dans le milieu. PUCK a employé un sérum humain. PARKER, pour suivre le développement d'une colonie de cellules de reins de singe, employait un sérum de cheval. Il remarqua dans l'une de ses colonies une petite plaque de cellules d'une croissance exubérante et d'une apparence différente du reste. Il isola cette plaque pour établir un nouveau clone. La colonie d'origine était destinée à la culture de quelques maladies à virus de l'homme; la colonie nouvelle s'est alors montrée complètement résistante à ces virus et ainsi sans valeur aucune pour ces études. Un examen cytologique soigneux a démontré que la colonie nouvelle était constituée uniquement de cellules de cheval! Evidemment la filtration du sérum n'était peut-être pas complète. Les cellules de singe ont servi de milieu nutritif pour une cellule de cheval, introduite accidentellement. Dans mon laboratoire j'ai dû rejeter, moi aussi, une colonie supposée humaine dans laquelle il s'est développé subitement des cellules d'un type aberrant; pour ces cultures, j'avais employé 1,0 % d'un sérum de lapin et j'ai dû supposer que c'était une colonie de cellules de lapin qui s'est développée dans mes cultures. Ces exemples doivent nous mettre en garde contre une source importante de danger et démontrent d'une façon éclatante l'importance des milieux synthétiques, préparés à l'exclusion complète de tout matériel d'origine biologique. Les méthodes courantes doivent être employées avec circonspection. Nous avons besoin de colonies de cellules végétales d'origine unicellulaire. Nous n'avons pas encore de méthode satisfaisante.

Une fois établie, une telle colonie, soit d'origine clonale, soit d'origine mixte, peut être cultivée le plus souvent comme couche monocellulaire, directement à la surface du verre de la boîte de culture. Plusieurs races standardisées sont ainsi cultivées, et peuvent être obtenues avec toutes les cellules qui sont capables d'un mouvement autonome. Il en est ainsi avec les leucocytes et lymphocytes, les fibroblastes, les cellules de quelques glandes, l'épithélium et l'endothélium et les cellules gliales du cerveau. Une fois ensemencée, on laisse une culture de ce type se multiplier jusqu'à une épaisseur de 3 à 4 cellules. On enlève les cellules par frottement avec une petite spatule ou un morceau de cellophane ou par digestion légère avec la trypsine. La suspension qui en résulte est transférée à la pipette, par parties aliquotes, dans une série de boîtes

additionnées de milieu frais. Toutes ces races poussent bien dans des flacons soumis à une agitation rapide et, par cette méthode, on peut obtenir des colonies massives. EARLE a ainsi récolté de chaque flacon plusieurs grammes de cellules pour ses études chimiques.

Ces méthodes, même complexes, sont utilisables pour isoler des cellules animales. Nous ne sommes pas encore arrivés à un développement semblable pour les techniques applicables aux cellules végétales. La trypsine ne sépare pas les tissus végétaux et les pectinases qui doivent la remplacer sont beaucoup plus toxiques qu'elle. Les cultures de *Parthenocissus* et de Pin étudiées par MOREL sont friables mais pas jusqu'au stade de cellules uniques. REINERT et moi-même avons trouvé des tissus d'Epicea qui, cultivés sur des milieux dépourvus de vitamine B₁₂ forment librement une purée de cellules isolées, mais nous n'avons pas de preuves que ces cellules isolées soient à l'origine de colonies nouvelles, bien que cela semble probable. DE ROPP a essayé de faire des cultures dans des tubes capillaires, d'après la méthode de SANFORD, ou dans des gouttes pendantes, mais encore sans résultats satisfaisants. HILDEBRANDT à Wisconsin et NICKELL à New York sont arrivés à des cultures de petites masses sinon de cellules isolées, par agitation des cellules dans des flacons. Dans aucune de ces études, nous n'avons la certitude de la multiplication de cellules uniques et de l'établissement de clones.

Cependant il existe deux travaux, effectués avec des méthodes semblables à celles de PUCK, qui peuvent être arrivés à des véritables clones de cellules végétales.

MUIR a préparé une couche nourricière sous forme d'une culture de tissu de tournesol. Sur celle-ci il a posé un petit carré de papier filtre imbibé de milieu nutritif convenable et sur le papier il a placé une cellule d'une autre culture, isolée par des méthodes de microdissection. Après quelques semaines il a trouvé des masses considérables de tissu sur le papier, masses qu'il a transférées sur un milieu nouveau pour établir des races d'origine supposée unicellulaire. On ne peut pas suivre au microscope le développement de jour en jour d'une telle culture. Il reste toujours possible que des cellules nourricières puissent avoir pénétré à travers le papier humide ou puissent avoir migré dans la couche capillaire du milieu liquide ou que des cellules multipliées puissent y parvenir par des accidents de technique. Les preuves certaines du caractère clonal des colonies manquent dans ces expériences.

TORREY a employé une méthode différente. Il a préparé une masse nourricière sous forme d'une culture au centre d'une petite plaque

d'agar sur un couvre-objet, en goutte pendante. Les cellules expérimentales n'étaient pas mises sur cette culture, mais étaient posées en cercle autour d'elle, à une distance suffisante pour qu'on puisse voir qu'il n'y a pas de continuité cellulaire entre les deux. On peut facilement suivre le progrès de chaque cellule d'une telle culture. TORREY a observé des mitoses dans à peu près 2 % des cellules isolées, il a pu en suivre quelques-unes jusqu'au stade de 7 cellules, mais n'est pas arrivé à établir des clones. On peut supposer que la mort de 98 % des cellules au cours des huit premiers jours après l'isolement était peut-être due à l'instabilité d'une petite goutte pendante et que, en employant des plaques plus larges on serait arrivé à un meilleur résultat. Ces méthodes ne suffisent certainement pas encore pour des travaux courants de laboratoire et ne sont pas non plus bien adaptées à tous les autres problèmes.

CULTURES ORGANISÉES

Les méthodes déjà décrites ne sont pas bien adaptées à toutes les sortes de cellules ni à tous les problèmes. Les neurones du type étudié par HARRISON ne se développent bien que sur un support fibreux. Les structures complexes que nous appelons « nerfs », faites de neurones, de cellules de SCHWANN, d'éléments d'origine gliale et des fibroblastes, exigent un développement lent pendant plusieurs mois sur un support complètement stable. C'est la même chose pour les os et les structures glandulaires comme le rein, le pancréas, la glande parotide, etc., et pour des organes comme les dents et l'œil. Les cellules épithéliales non spécialisées peuvent pousser dans des cultures agitées ou en couches submergées — ainsi l'épithélium de foie — mais la différenciation complexe d'un épithélium cilié de poumon ou de muqueuse nasale exige des conditions stables, et l'épithélium kératinisé de la peau ne se développe d'une façon normale que quand il se trouve exposé à une interface air-liquide, non submergée et stable pendant des périodes prolongées. Ce sont des conditions bien différentes de celles qui conviennent aux cellules sans organisation.

Ces exigences ont donné naissance à toute une série de techniques diverses. En même temps que CARREL, qui en Amérique mettait au point la méthode de culture en flacon pour des souches désorganisées et de croissance rapide, surtout les fibroblastes, les globules du sang et les épithéliums simples, on utilisait particulièrement en Angleterre une méthode pour la culture des organes différenciés ou en cours de différenciation. La morphogenèse normale d'un organe dépend évidemment de l'établissement d'une couche ininterrompue d'épithélium qui dépend à son tour d'une migration réduite de fibroblastes. Ces conditions sont réalisées en premier lieu par un abaissement de la valeur nutritive du milieu et par le transport répété de la culture qui déchire l'auréole des cellules migratrices aussitôt qu'elle se forme. Les organes sont mis sur un caillot de plasma dans un verre de montre. Mais l'épithélium tend à liquéfier le plasma par son action digestive, laissant les cultures tomber au fond où l'oxygénation devient insuffisante. MARTINOVITCH évitait cet inconvénient en supportant les organes par de petits bâtons de verre. Ces techniques ont servi pour des études importantes sur le développement des yeux, des dents, des cheveux, des plumes, des os, etc. Ces

études sont d'une grande importance, par exemple pour l'étude du métabolisme phosphaté dans les ébauches des os, du rôle de la vitamine A dans la formation de ceux-ci, dans le développement des organes humains qu'on veut réimplanter chez les malades pour des raisons de thérapeutique. Ainsi GAILLARD a cultivé des parathyroïdes prélevées sur des fœtus humains pour les greffer sur des malades, victimes d'une tétanie résultant de l'enlèvement accidentel ou thérapeutique des parathyroïdes.

Récemment Etienne WOLFF, maintenant à Paris, donne à ces études un caractère nouveau et important en substituant au caillot de plasma un substratum non nutritif d'agar et en y ajoutant une couche de liquide nutritif synthétique ou mi-synthétique. L'agar n'est donc pas liquéfié et ne fournit pas de facteur nutritif; il n'encourage pas le développement des fibrocytes. Le milieu liquide permet l'établissement plus rapide et plus normal d'une capsule épithéliale et le développement organotypique de l'explantat. Ces études ouvrent certainement des horizons d'une importance extraordinaire, surtout pour l'étude des problèmes de l'invasion, par des tumeurs, de systèmes simplifiés.

Afin de revenir à la question du cancer lui-même il faut considérer encore un sujet de deuxième plan. Les questions de nutrition spéciales des cellules des tissus et des organes doivent maintenant être abordées.

LA NUTRITION DES CELLULES, IN SITU ET IN VITRO

Les cellules ne fonctionnent pas d'une manière autonome dans le vide. Elles sont tributaires du milieu environnant qui remplit de nombreuses fonctions : protection, corrélation, support. Parmi ces fonctions, la plus importante est de fournir la nutrition essentielle, d'établir et maintenir l'échange de substances entre les différentes parties et d'éliminer les déchets. C'est là le fondement de tout métabolisme et par conséquent de toute la vie. Si nous voulons comprendre le cancer il nous faut d'abord élucider les problèmes de la nutrition, et pour cela les méthodes de culture des tissus peuvent être de la plus grande utilité.

Il importe tout d'abord de comprendre ce qu'est la nutrition.

Nous avons devant nous une cellule. Elle doit continuer d'être une cellule. Nous devons maintenir au moins le *statu quo ante*. Cela exige un minimum assez complexe de conditions. Le milieu ambiant ne doit pas extraire de la cellule de substance utile à son bien-être et doit y apporter une quantité suffisante de toute substance nécessaire aux échanges minimum pour l'existence. Un milieu qui remplit ces exigences, nous l'appelons « milieu d'entretien ». Il sera probablement à peu près le même pour toutes les cellules d'une espèce particulière mais peut différer légèrement d'une espèce à l'autre. Un tel milieu est l'équivalent physiologique de l'histologie statique dont nous avons parlé auparavant. Il représente un métabolisme de base, permet un minimum de changement, bon ou mauvais.

Mais en plus du fait d'exister en unité d'organisation, la cellule peut fonctionner ; pour se comporter en organisme pleinement compétent et autonome elle doit fonctionner, chaque cellule ayant un fonctionnement propre. Une cellule thyroïdienne peut vivre sans fabriquer de thyroxine, un érythrocyte sans faire d'hémoglobine, un ostéoblaste sans précipiter les substances phosphatées de l'os, une cellule végétale sans fabriquer de sucre ou d'amidon ; mais aucune de ces cellules n'exprime sa compétence complète si elle ne remplit pas une ou plusieurs de ces activités spécifiques. Les milieux développés pour remplir ces fonctions seront évidemment plus complexes et de types plus variés que ceux adaptés seulement pour maintenir la vie. Il est même probable qu'on aura besoin de distinguer autant de milieux fonctionnels pour chaque organisme qu'il y a de types de cellules et de fonctions cellu-

lares à satisfaire chez cet organisme. Le problème devient de plus en plus complexe. Même ici, d'ailleurs, le matériel d'expérience — la cellule, le tissu ou l'organe complexe — ne sera pas obligé de subir une altération par suite de ces fonctions. Nous avons élevé le niveau d'existence, augmenté sa complexité en employant de tels milieux fonctionnels; nous sommes néanmoins encore en présence d'un *statu quo* anatomique.

Il y a ensuite, une fonction cellulaire qui n'est certainement pas statique : c'est la fonction de croissance et de multiplication. La croissance, au-dessus du minimum nécessaire pour maintenir la vie, et le niveau un peu plus élevé demandé par les fonctions quotidiennes, exige l'apport ininterrompu de toute une série de substances d'une variété beaucoup plus grande. Un tel milieu nous pouvons le désigner « milieu de croissance ». Les résultats de son emploi ne seront pas un *statu quo* mais un dynamisme.

Le problème qui nous intéresse ici, celui du cancer, concerne une altération que nous appelons « maligne » dans la vie intime des cellules. Nous n'arriverons à une compréhension complète de ces cellules altérées que quand nous pourrons définir et manipuler tous les facteurs de leur écologie. L'étude de la nutrition de cellules, de tissus et des organes est de la plus haute importance. Elle doit être élargie et approfondie autant que possible.

Le premier milieu employé pour les cellules animales, celui d'ARNOLD en 1887, était fait de l'humeur aqueuse de l'œil à laquelle on ajoutait de l'exsudat pleural de la cavité péritonéale. Ce milieu n'était aucunement défini. Le caillot de lymphé employé par HARRISON une génération plus tard et le plasma, le sérum et le jus d'embryon introduits encore plus récemment par BURROWS et CARREL n'étaient pas plus précis. Néanmoins, même à cette époque, aux environs de 1910, l'importance de la nutrition pour le succès de ces études était déjà reconnu. Dès le commencement, ces études se sont orientées en plusieurs directions. CARREL en Amérique, FISHER et GREW en Europe ont développé et précisé la connaissance des matières organiques, pour la plupart d'une constitution chimique inconnue, nécessaires à la prolifération rapide, continue et avec un minimum de différenciation. Ces milieux étaient des milieux de croissance; l'attention était attirée sur l'importance du jus d'embryon. Un autre groupe, représenté pendant quarante ans presque exclusivement par Warren et Margaret LEWIS, s'occupait de l'élaboration de la partie minérale et définie du milieu, surtout la solution équilibrée de sels. Ces études employaient des cultures de courte durée dans les-

quelles ni la prolifération rapide ni une différenciation profonde n'étaient exigées; seul un état de métabolisme sain et une prolifération suffisamment prolongée pour assurer une physiologie normale étaient demandés. Ces milieux étaient des milieux d'entretien, relativement simples. Un autre groupe encore, guidé surtout par STRANGEWAYS et FELL en Angleterre, a insisté plutôt sur une différenciation et un développement de fonction des complexes cellulaires, des organes : des yeux, des os, des glandes, des membranes, etc. Ces milieux étaient des milieux fonctionnels, mais comme nous l'avons dit plus haut, lymphe, sérum, plasma sont d'une complexité extrême, aucunement définis, loin d'être uniformes. Le sérum d'un animal jeune diffère de celui d'un animal sénile. Le sérum d'un malade est tout autre que celui d'un individu sain. Le niveau lipidique et celui de quelques sels essentiels varient d'heure en heure. Le coma diabétique vient d'un excès de sucre et de dérivés acétiques ainsi que d'un pH abaissé du sérum sanguin; la tétanie dérive d'un niveau trop bas de calcium, etc. Le sérum peut être toxique en raison de la présence d'anticorps spécifiques et d'agglutinines. Dire qu'on a employé « le sérum de poule », le « sérum de cheval », le « sérum de cordon placental humain », c'est dire peu de chose. FISCHER pensait avoir enlevé les éléments nutritifs essentiels d'un sérum, par dialyse prolongée contre une solution de Ringer-dextrose, parce qu'un tel sérum, employé à une concentration auparavant active, ne permettait plus la croissance des cellules de poule. Mais LASFARGUES et moi-même avons démontré qu'un tel sérum était de nouveau rendu actif par la simple addition d'un peu de solution de Ringer fraîchement préparée. Et HARRIS a démontré que l'addition du seul bicarbonate de sodium avait le même effet. D'ailleurs le sérum est un mauvais milieu si on veut comprendre le métabolisme cellulaire.

C'est encore plus vrai pour le « jus d'embryon » qui a été si longtemps la source des « matériaux de croissance » pour les cellules animales. Pendant très longtemps on a considéré qu'un milieu n'était pas complet s'il ne contenait au moins 20 % de jus d'embryon. Récemment on a commencé à douter de l'importance de ces substances. Dans mon laboratoire, on n'a pas employé le jus d'embryon depuis plusieurs années. Cependant l'idée meurt difficilement et nous trouvons encore les bouillons, les broyages de tissu, les filtrats d'œufs, les liquides pleuraux, amniotiques et cérébraux et, pour les plantes, le lait de coco, dans les formules de milieu nutritif.

Quels sont alors les véritables besoins des cellules pour vivre et croître dans les cultures de tissus et comment arriver à des formules

convenables? Pourquoi la lymphe et le sérum étaient-ils des milieux de base tellement efficaces? Qu'est-ce qu'on peut faire pour améliorer encore nos formules?

Du point de vue qualitatif il n'est pas difficile de prédire ce que chaque cellule peut exiger. Elle aura besoin d'une solution équilibrée de sels, comme source d'ions : le sodium, le calcium, le potassium, le magnésium, l'azote, le soufre, le phosphore et pour la plupart des cellules animales le chlore, dans des proportions bien réglées; la cellule aura certainement besoin de toute une série de métaux lourds, en toutes petites quantités, comme co-facteurs pour des enzymes vitaux. Nous ne connaissons pas encore les détails de ces besoins, mais nous pouvons prédire qu'il faut du fer, du cuivre, du zinc, de l'iode, du cobalt et peut-être du caesium pour d'autres systèmes. Les cellules auront certainement besoin d'une source d'énergie sous forme de glucides, surtout le glucose.

Mais les niveaux de capacité synthétique des diverses cellules peuvent différer largement. Nous ne devons pas oublier la grande portée des mutants de métabolisme qu'on a trouvés chez *Neurospora* et le réseau complexe des sentiers du métabolisme intermédiaire qu'on y a décelé. On peut anticiper sur le fait que les besoins d'azote des cellules seront complexes. On trouve plus de vingt acides aminés dans les protéines des plantes et des animaux; il y en aura certainement quelques-uns à ajouter au milieu, mais on ne doit pas supposer qu'il faut les ajouter tous, et on ne peut pas prédire lesquels.

Mes premières expériences d'il y a trente ans ont porté sur quatre matériels : les racines de blé, les embryons de *Portulaca*, les ébauches des semences d'*Antirrhinum* et les méristèmes intercalaires des Graminées. Pour des raisons qu'il ne sera pas nécessaire de préciser ici, j'ai choisi pour la plupart de mes études les racines de préférence aux autres organes, et j'ai remplacé celles du blé par celles de la tomate. Les besoins en azote de ces racines peuvent être satisfaits par une peptone d'origine animale ou par un extrait de levure de bière. J'ai préféré la levure, qui était à cette époque plus facile à préparer en grandes quantités. J'ai abordé, en 1935, le problème qui consistait à isoler de la levure, par fractionnement systématique, les matières nécessaires à la croissance des racines de tomate.

La quantité optimale de levure sèche est d'à peu près 100 grammes par litre de milieu. Une simple filtration en élimine 65 %, et un passage sur une membrane de dialyse en sépare encore 34 %. Ce qui passe à travers la membrane, soit moins de 2 % de matière sèche, peut ren-

placer complètement la levure brute; cette partie contient toutes les matières stimulantes. Les facteurs essentiels de ces 2 % se sont montrés solubles dans l'éthanol à 85 %, insolubles dans l'éther, et inactivés par l'acide nitreux; ils ne sont donc pas de nature lipidique mais évidemment de nature azotée. Une séparation encore plus poussée avec l'éthanol à 100 % fournit deux parties, chacune nécessaire. Celle qui était soluble dans l'alcool absolu avait une faible teneur en azote, tandis que celle qui n'était pas dissoute montrait un taux d'azote tel qu'on peut supposer qu'il consiste en grande partie d'acides aminés ou de peptides. Des expériences avec des acides aminés communs démontrent qu'on peut remplacer la fraction insoluble dans l'alcool absolu par un mélange de neuf acides aminés qui se trouvent dans l'extrait de levure. Mais un examen plus approfondi a montré que la glycine, qu'on ne trouve dans la levure qu'en quantité très restreinte, peut seule remplacer tous les autres acides aminés. Les racines de tomate peuvent donc suppléer à tous leurs besoins en azote à partir du plus simple de tous les acides aminés. La fraction solubilisée par l'alcool absolu se trouvait être remplaçable par une vitamine, la thiamine. Des études plus détaillées ont mis en évidence encore d'autres possibilités. La thiamine, en présence de glycine, peut à elle seule satisfaire tous les besoins vitaminiques pour une croissance lente mais illimitée des racines de tomate. Mais on peut améliorer encore le résultat en ajoutant deux vitamines de plus, l'acide nicotinique et la pyridoxine. En présence de la pyridoxine, les racines n'exigent plus la glycine; elles peuvent alors fabriquer toutes leurs protéines à partir du nitrate minéral. Et on peut remplacer la thiamine par un mélange de deux substances encore plus simples, le thiazole et la pyrimidine.

Nous nous trouvons ici en face d'au moins trois niveaux de complexité par lesquelles nous pouvons introduire l'azote dans le système; le choix sera dicté par d'autres facteurs. Nous pouvons partir du nitrate si nous avons en présence la pyridoxine qui permet la synthèse des acides aminés; si la pyridoxine manque nous pouvons partir de la glycine; et si nous n'avons, ni la glycine ni la pyridoxine, il faut se placer à un niveau encore plus élevé en donnant une série de neuf acides aminés comme base de la synthèse des autres. Il faut toujours tenir compte de ces niveaux métaboliques, de ces raccourcis, dans les discussions sur la nutrition de la cellule; il faudra y venir quand nous considérerons les problèmes de la malignité.

Revenons, alors, à notre sujet original. Nous avons dit que toute cellule exige un certain nombre de sels minéraux. Dans le développe-

ment des milieux pour la culture des cellules, on a d'abord pensé qu'on pouvait mieux satisfaire leurs besoins en copiant plus ou moins exactement la composition minérale du milieu dans lequel les cellules se trouvent baignées dans le corps. Pour les animaux, ce milieu sera le sérum du sang; pour les plantes, la solution minérale du sol. Les biologistes végétaux ont abordé ce problème, je crois, avec un peu plus d'imagination que ceux qui se sont occupés des animaux. Peut-être est-ce seulement parce que le problème s'est posé d'une façon plus claire et plus simple.

L'analyse des solutions du sol a abouti, il y a déjà presque un siècle (1865) à l'établissement de la solution de KNOP qui, modifiée légèrement, sert de base aux milieux de GAUTHERET et de HELLER pour la culture des tissus végétaux. Elle contient des ions calcium, potassium et magnésium et les éléments : azote, soufre, phosphore, oxygène et hydrogène; pas plus de six éléments en plus de ceux du véhicule, l'eau. En 1865, on supposait que cette solution suffisait pour presque toutes les plantes. Mais des facteurs du milieu non reconnus pouvaient contribuer d'une façon importante à ce résultat. On employait souvent alors, pour préparer les solutions, de l'eau de pluie, s'écoulant des toits. C'était, en fait une eau assez pure et uniforme, une sorte d'eau distillée un peu grossière. Mais l'eau de pluie contient de nombreux éléments provenant de la poussière du toit, des tonneaux en bois, des bouteilles ou des faïences employées pour l'emmagasiner. D'autres impuretés sont apportées par les sels minéraux utilisés comme engrais, et les récipients dans lesquels on met les plantes en culture. On ne reconnut que 50 ans plus tard les besoins des plantes en fer, et je me souviens moi-même de l'habitude de mettre un vieux clou ou un morceau de fil de fer dans chaque récipient de culture, comme source de fer. Les raffinements sont venus plus tard. MAZÉ, à l'Institut Pasteur de Paris, comme travail accessoire, a fait l'étude de la nutrition des plantes et entre autres a ajouté le manganèse et le zinc à la liste. On a reconnu finalement que les pots en terre cuite dans lesquels on cultivait depuis longtemps les plantes, n'étaient pas, comme on l'avait pensé, chimiquement inertes. Ils étaient vernis avec du borax et apportaient du bore essentiel. Même aujourd'hui les besoins en bore sont difficiles à démontrer par suite de l'habitude qu'on a de garder l'eau et les solutions en réserve dans des récipients en Pyrex ou autres verres du type des borosilicates; la solubilité du bore contenu dans le Pyrex suffit pour suppléer aux besoins minimes en bore de la plupart des plantes, et on ne peut démontrer une carence qu'en se servant de récipients en quartz,

en verre Vicor, de flacons parafinés ou, ces dernières années, de boîtes de polyéthylène ou autre plastique insoluble. Peu à peu on a ajouté d'autres éléments. J'ai trouvé l'iode comme complément utile pour quelques tissus végétaux, fait confirmé par HELLER. D'autres, surtout STREET, ont ajouté le cuivre et le molybdène. On doute encore du rôle essentiel de l'aluminium, du sodium, du silicium, du cobalt et peut-être du caesium dans la nutrition de quelques plantes ou parties de plantes. La solution de BERTHELOT, employée depuis longtemps par GAUTHERET, ajoute en plus le béryllium, le titane et le nickel, mais je ne connais aucune preuve certaine de leurs effets. On a ainsi construit peu à peu une liste imposante d'éléments minéraux « essentiels » pour la nutrition des cellules végétales. Cette liste est précise et les niveaux essentiels bien déterminés.

Bien que ces besoins soient établis, c'est une tout autre chose de dire pourquoi ils sont nécessaires, quel rôle chaque substance joue dans le métabolisme total. Pour quelques-unes c'est facile : le carbone, l'hydrogène et l'azote forment le substratum essentiel de la respiration et construisent le squelette de la cellule. L'azote et le soufre sont des matériaux de construction pour les corps protéiques. Le calcium joue un rôle dans les surfaces des cellules et dans la jonction des cellules entre elles. Le fer, le cuivre et le manganèse entrent dans le système respiratoire. Les rôles exacts du potassium et du magnésium sont moins clairs, bien que ces éléments soient requis en assez grandes quantités par toute cellule. Le cobalt est une partie essentielle de la vitamine B₁₂. Le zinc et le bore jouent des rôles non encore bien définis dans le fonctionnement des hormones de croissance, les auxines. Les rôles du sodium, du manganèse, du silicium et de l'aluminium sont encore plus obscurs. Nous les comprendrons un jour.

Les cellules des plantes ont peu de besoins en plus d'une solution équilibrée et complète et une source de carbone, c'est-à-dire un glucide. Si on les laisse pousser à l'obscurité, elles exigent une source extérieure de thiamine. Nous ne savons pas encore l'endroit exact chez la plante où la thiamine est normalement synthétisée, mais le fait que NOBÉCOURT trouve que les tissus de carotte, cultivés à la lumière, contrairement à ceux cultivés à l'obscurité, n'ont pas besoin d'une source extérieure de thiamine, montre que la thiamine est, d'une façon directe ou indirecte, un produit des processus photosynthétiques. Mais si on ajoute dans le milieu les deux constituants : le thiazole et la pyrimidine, les racines isolées de tomate peuvent synthétiser la thiamine, même à l'obscurité. Le produit de la photosynthèse est peut-être l'une de ces substances. Nous savons encore moins où est fabriquée la pyridoxine, bien que

nous connaissions son rôle primordial dans l'assimilation de l'azote au niveau des nitrates. Il y a d'autres vitamines utilisées par quelques plantes, surtout l'acide nicotinique, la biotine, et l'acide pantothénique. D'autres tissus exigent des hormones végétales, les auxines, bien qu'il y ait des tissus qui peuvent les fabriquer eux-mêmes. Nous verrons plus tard que c'est là une question soulevée dans nos essais d'élucider l'état malin.

Les animaux ne vivent pas dans une solution du sol. Il n'existe pas d'animaux autotrophes. Tous les animaux en quelque sorte sont des parasites, sinon d'autres animaux, du moins des plantes. Mais il faut nous souvenir que nous sommes en train d'examiner non pas l'écologie des animaux mais plutôt l'écologie spéciale de tissus, de cellules solitaires ou d'organes. L'écologie d'une cellule dans un organisme complexe est évidemment différente de celle d'un organisme entier. Or la cellule d'un mammifère, par exemple, vit en fait dans une solution assez comparable à une solution du sol, c'est-à-dire le « milieu interne » de Claude BERNARD. Ce milieu est représenté par les fluides fondamentaux du corps, le sérum du sang et la lymphe. Comparables aux solutions du sol en quelque sorte, les fluides animaux présentent cependant des différences importantes. Chaque cellule animale, contrairement aux cellules végétales, se trouve entourée complètement par le milieu. Il ne suffit pas que tous ses besoins nutritifs soient remplis par ce milieu; il faut qu'elle puisse en plus y rejeter tous les déchets du catabolisme. La cellule animale ne peut pas expirer son gaz carbonique dans l'air comme font les cellules du mésophylle d'une feuille, ni rejeter des ions superflus dans la solution du sol comme le font les racines. La cellule animale est comme un cochon dans son taudis, croupissant dans ses ordures. Seul le lavage rapide fourni par des mécanismes accessoires nous permet de considérer les liquides qui entourent les cellules des mammifères comme des milieux convenables. Il est probable que le milieu liquide idéal pour la cellule de mammifère aura une formule tout à fait différente de celle du sérum ou de la lymphe. Il doit englober probablement tous les éléments exigés par les cellules végétales, bien que dans des proportions différentes. Il peut nécessiter d'autres éléments. Mais il est presque certain que le sérum et la lymphe comprennent des éléments non obligatoires, même nuisibles, inhibiteurs et toxiques pour les cellules.

Alors, comme nous l'avons déjà dit, il y a deux voies principales pour l'étude des problèmes de la nutrition cellulaire : ou nous pourrions analyser les milieux complexes que nous avons déjà trouvé convenables, comme le sérum ou le jus d'embryon, pour en séparer les éléments essen-

tiels des matériaux accessoires, et pour établir des concentrations optimales; ou nous pourrions synthétiser des combinaisons nutritives à partir des listes de substances qui se sont montrées importantes pour d'autres organismes. Il est probable qu'une combinaison judicieuse des deux méthodes sera plus efficace.

La première méthode, l'analyse, peut amener à des erreurs graves. Nous avons déjà vu comment FISCHER n'a pas reconnu le rôle de tampon du carbonate dans les résultats de la dialyse. CARREL et BURROWS faisaient une erreur du même ordre qui a retardé notre compréhension du problème d'au moins trente ans. Ils ont reconnu que le sérum et le jus d'embryon sont riches en substances azotées, les acides aminés. Ils ont étudié les effets des acides aminés, ajoutés à leurs milieux à base de sérum. Mais ils les ont ajoutés à des niveaux déterminés par l'analyse des protéines du sérum ou de la fibrine digérée par l'acide, c'est-à-dire digérée totalement. Et ils ont trouvé que les acides aminés, à des concentrations ainsi établies, étaient presque sans exception toxiques. Ils en ont tiré la conclusion que les acides aminés ne peuvent pas être utilisés par les cellules animales et que seules les protéines et les peptides complexes sont utilisables. Ce qu'ils n'avaient pas reconnu c'est que les quantités d'acides aminés qu'on produit par l'hydrolyse d'une protéine, sont beaucoup plus fortes que celles des acides aminés libres présents dans une suspension de ces mêmes protéines comme dans le sérum.

On faisait depuis longtemps une erreur semblable mais en sens inverse pour le phosphate. Les cellules exigent beaucoup de phosphate, non seulement comme substance tampon, mais aussi comme constituant des acides nucléiques. Le phosphate organique du sérum et du jus d'embryon est, en fait, un phosphate lié, insoluble, mais librement accessible aux enzymes digestifs des cellules. Il ne suffit pas de doser le phosphate libre du jus aqueux et d'ajouter la même quantité à nos solutions de sels comme nous le faisons pour les cellules végétales. En abaissant le niveau du sérum, il faut remplacer son contenu total en phosphate organique par des quantités égales de phosphate minéral. Dans nos études nous avons dû élever le niveau de phosphate minéral à presque vingt fois celui de la solution classique de TYRODE, pour maintenir une croissance régulière et rapide des cellules animales en l'absence de sérum.

En abordant le problème d'une façon rationnelle, nous pouvons finalement arriver à une formule nutritive qui, par comparaison avec les nombreuses tentatives antérieures, est d'une simplicité étonnante. Le milieu classique de CARREL comprenait 40 % de sérum ou de plasma, 20 % de jus d'embryon et 40 % d'une solution équilibrée de sels.

Ce milieu fut employé comme modèle partout dans le monde pendant presque trente ans, de 1920 à 1950. Il est encore largement employé. Du point de vue de la définition chimique, seule la solution de sels est déterminée; le reste, 60 %, est un véritable brouet de sorcière. Des efforts pour analyser ce milieu, faits avec la supposition naïve que tout ce qu'on trouve par analyse est nécessaire, et doit être ajouté à la même concentration, ont abouti à l'établissement de plusieurs milieux dits « définis ». Celui de l'Institut du Cancer aux Etats-Unis par exemple, la solution « NCTC n° 109 », contient 63 matières distinctes, est instable et coûte à peu près dix dollars le litre. Il agit, mais d'une façon imparfaite. Dans mon laboratoire, par contre, en suivant une conception assez différente résultant de nos études sur les tissus végétaux, nous avons éliminé près de la moitié de ces éléments, n'en retenant que 40 et, par des changements quelquefois très importants dans la concentration de ceux qui étaient retenus, nous sommes arrivés à une série de formules qui sont certainement plus efficaces, beaucoup plus simples, plus stables et moins coûteuses.

Nous n'avons pas beaucoup modifié la solution minérale sauf à deux points de vue. Comme je l'ai déjà dit, en éliminant le jus d'embryon et le sérum avec leur contenu élevé en phosphate organique, nous avons trouvé nécessaire d'ajouter presque vingt fois plus de phosphate minéral. En même temps nous avons dû abaisser le taux de bicarbonate. Un peu de carbonate est indispensable, mais la plus grande partie de ce sel dans les milieux anciens a évidemment servi uniquement à neutraliser les acides organiques toxiques. Mais, en même temps, nous avons ajouté toute une série d'ions, surtout des éléments oligodynamiques : le fer, le cuivre, le zinc, le manganèse et l'iode. Ces éléments existent certainement en traces minimes dans le sérum; ils sont nécessaires et il faut les ajouter.

Pour les substances organiques, nous avons apporté des modifications quelquefois frappantes. Le sérum contient à peu près toutes les vitamines connues. D'autres chercheurs ont considéré que ces vitamines étaient toutes nécessaires aux cellules, et que les cellules animales ne sont pas capables de les fabriquer. Nous avons déjà vu que cela n'était pas vrai pour les plantes. Aucune cellule, autant que nous le sachions, ne peut synthétiser la thiamine à l'obscurité. Il en est de même pour les cellules animales. Mais, mises à l'épreuve, les cellules de la souris ont montré des capacités synthétiques qui nous permettent d'écarter du milieu toute une série de vitamines que nous trouvons dans le sérum : la biotine, l'acide nicotinique, l'acide ascorbique, la riboflavine, l'ino-

sitol, la β -alanine, l'acide para-amino-benzoïque, et probablement l'acide folique et la vitamine B₁₂. Seuls la thiamine, l'acide pantothénique et

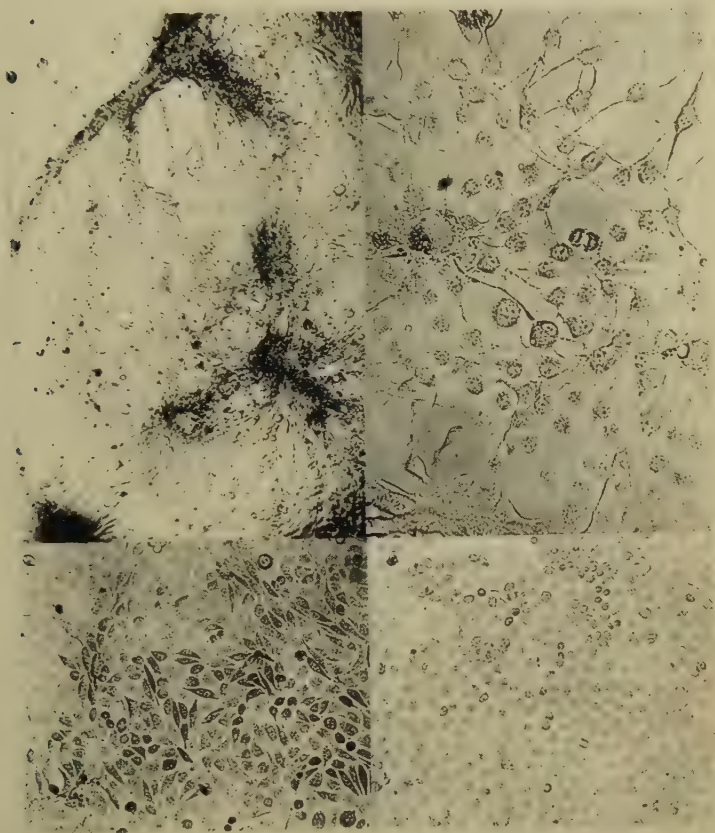


Fig. 13. — Cultures de cellules animales sur des milieux définis. En haut, à gauche, muscle de cœur de poulet, après deux mois sur formule de WHITE de 1949 (W II). Les muscles continuent leur contraction rythmique, mais ne montrent aucune multiplication. En haut, à droite, fibroblastes sarcomateux de souris (Souche « L » d'EARLE) sur milieu W II additionnée de 5 % de sérum de lapin. Croissance active et illimitée. — En bas, à gauche, souche L, sur milieu préliminaire de WAYMOUTH, sans sérum, mais additionnée de 0,1 % de peptone. A droite, souche L après 22 passages dans un milieu complètement synthétique MB 752/1 de WAYMOUTH. Croissance illimitée en l'absence complète de matières complexes « naturelles ».

la choline doivent être ajoutés au milieu. Si les cellules de la souris ont besoin des autres vitamines (et nous n'avons aucune raison d'en douter) elles peuvent les synthétiser à partir des éléments plus simples. Mais pour la thiamine nous trouvons que la concentration optimale est au moins cent fois plus élevée que celle qu'on trouve dans le sérum!

Il en est de même pour les acides aminés du sérum; quelques-uns ne sont pas essentiels ou même sont nuisibles. Nous avons éliminé la cystine, l'acide glutamique, l'acide aspartique et la glycine. Mais nous avons dû augmenter énormément les concentrations d'histidine, de lysine, de cystéine et de tyrosine. Et nous avons ajouté des quantités énormes de glutamine. Nous sommes arrivés ainsi à un milieu de base permettant de bâtir une étude raisonnée des besoins nutritifs des cellules. Mais ce n'est qu'un commencement. Nous n'avons examiné qu'un nombre très limité de catégories de cellules. Nous avons à peine touché aux questions des différences entre les espèces animales et entre les différentes cellules d'une seule espèce. Je suis convaincu que les prochaines années verront naître une science toute nouvelle de la nutrition cellulaire. J'anticipe en disant que nous trouverons que la différence entre une cellule nerveuse et une cellule osseuse ou entre une cellule-mère de grain de pollen et une cellule de poil absorbant de racine, est d'origine nutritionnelle.

Permettez-moi de terminer sur un exemple que j'emprunte au laboratoire de Madame FELL à Cambridge, exemple dans lequel je crois trouver un modèle pour l'avenir.

Il existe plusieurs sortes d'épithéliums dans le corps. Parmi les plus importants, il y a l'épithélium dur, kératinisé de la paume de la main ou de la peau calleuse de la jambe du poulet, et l'épithélium extraordinairement tendre, mobile et cilié du revêtement intérieur de la muqueuse nasale. Si nous prélevons aseptiquement des morceaux d'épithélium de ces deux régions chez l'embryon et les cultivons sur un milieu sérum-jus d'embryon classique, ils se modifient pour devenir tout à fait semblables, sans aucune différenciation particulière. Remarquons que la kératinisation de la muqueuse nasale avec perte d'odorat est une caractéristique de quelques maladies que nous associons à des carences nutritives. Dès lors, nous cultivons l'épithélium d'origine nasale sur un milieu préparé avec du sérum d'animaux privés de vitamine A., les cellules en se multipliant perdent leurs cils et deviennent cornées, et si nous cultivons l'épithélium de la paume sur un milieu auquel nous ajoutons un excès de vitamine A, les couches cornées et kératinisées sont repoussées par la sécrétion de la muqueuse sous-jacente, les cellules extérieures

s'allongent pour former une couche en palissade, et les cellules finissent par devenir ciliées. Nous pouvons orienter à volonté l'évolution de l'épithélium d'un type à l'autre en modifiant uniquement le taux de vitamine A dans le milieu extérieur. On peut au moins imaginer que la

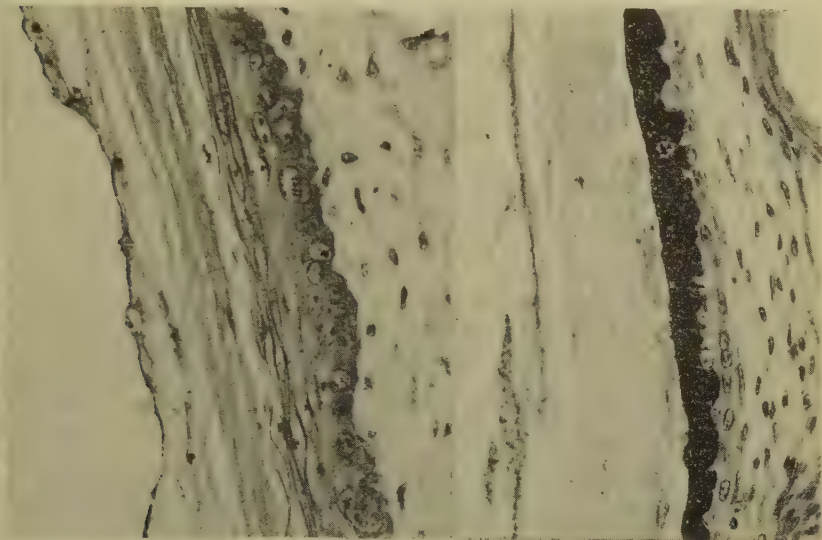


Fig. 14. — Peau de poule cultivée sur des milieux complexes préparés : à gauche, avec sérum de volailles carencés en vitamine A, montrant une kératinisation considérable des cellules épithéliales; à droite, culture sur milieu additionné d'un excès de vitamine A. On ne voit aucune kératinisation, mais une couche considérable de mucus (en noir) secrété par l'épithélium, et des cellules ciliées sous le mucus. Renversement complet de différenciation par une substance unique, d'après FELL et MELLANBY.

différenciation dans le corps est déterminé par des variations locales dans l'approvisionnement vitaminique par le sang ou par des carences locales. Cette expérience ouvre la voie à un grand développement de l'étude de la nutrition de cellules en cultures de tissus.

LES ORIGINES DU CANCER

I. FAITS ET THÉORIE

En ne tenant compte que de ses aspects biologiques, on peut considérer le cancer comme un changement profond dans le caractère et le comportement des cellules en tant qu'unités autonomes. Ces cellules altérées et leurs descendantes ne répondent plus aux contraintes qui, dans le corps sain, dirigent et limitent leur croissance, leur développement et leur fonctionnement. C'est par suite de ce relâchement des contraintes que ces cellules peuvent envahir, dépasser les voisines, entraver, bloquer leur fonctionnement, et finalement les remplacer.

Nous avons vu que cette altération de caractère frappe des cellules isolées, côte à côte et complètement entourées de cellules normales. Ce n'est qu'en vertu de quelque avantage physiologique qu'elles peuvent survivre, se multiplier, et quelquefois écarter et détruire les autres. Bien que cette altération frappe généralement des cellules isolées, il arrive que des cellules ainsi modifiées se trouvent groupées, pas nécessairement contiguës, mais produisant des reprises multiples en certains endroits.

Pourquoi ?

On a construit trois hypothèses, chacune ardemment défendue, pour expliquer ces faits.

La première hypothèse n'est pas, en vérité, une théorie de causalité. Elle postule qu'il n'y a pas de véritable altération, ou au moins que toute altération fait partie du développement normal. D'après cette hypothèse, la cellule cancéreuse n'est qu'une cellule parfaitement normale qui n'a pas terminé le cycle habituel de différenciation organogénétique de l'individu, c'est-à-dire qu'elle a gardé ses caractéristiques embryonnaires. Elle est donc une cellule embryonnaire ensevelie dans un ensemble de cellules différenciées et adultes. Les cellules embryonnaires, on le suppose, sont douées d'une croissance rapide et ces cellules disséminées dans le corps, se dégagent de temps en temps pour reprendre leur comportement embryonnaire normal. C'est la théorie des « restes embryonnaires ».

Il existe en vérité chez les plantes et les animaux des nids de cellules de caractère embryonnaire. Chez les plantes, les cellules des rayons médullaires gardent leurs capacités méristématiques pendant de nombreuses années. On a pu cultiver en culture de tissus des cellules enle-

vées de rayons médullaires voisins de la moëlle d'arbres âgés de cinquante ans et plus. Chez les animaux le fait qu'un os brisé chez un adulte, peut se réparer, montre clairement l'existence, dans l'os, de cellules qui sont capables de se multiplier. Chez l'animal, évidemment, les faits sont masqués par l'existence de cellules migratrices qu'on ne trouve pas chez les plantes. Mais nous ne pouvons pas nier la distribution générale des cellules de caractère embryonnaire dans tout corps vivant. Toutefois ce n'est pas en ces endroits qu'on trouve le plus souvent les cancers, et chez les plantes au moins, les cultures qu'on a faites à partir de ces restes embryonnaires se sont développées tout à fait comme des cellules normales. On n'a pas pu y reconnaître la moindre trace de cancer. Et l'hypothèse ne nous dit rien des facteurs qui peuvent éventuellement provoquer le développement de ces cellules. Elle n'est pas une théorie de causalité.

La seconde hypothèse est un peu plus solide. Elle postule qu'un véritable changement s'est produit, de la nature d'une mutation dans le soma, dans des cellules éparpillées dans le corps. Cette hypothèse s'accorde mieux que les autres avec les faits; j'aurai l'occasion de la discuter en détail plus tard. Pour le moment je ne veux que l'introduire dans notre classification.

La troisième hypothèse, qui postule elle aussi un changement réel, et qui a beaucoup de faits en sa faveur, dit que le changement représente une adaptation. D'après elle, la cellule cancéreuse n'est ni un reste embryonnaire ni une cellule profondément altérée par une mutation; elle est plutôt une cellule dont le métabolisme subit un réajustement lent et par étapes imperceptibles. Ce métabolisme est déformé par des conditions externes jusqu'au point d'acquérir un caractère nouveau. Les différences sont alors plutôt quantitatives que qualitatives. Il n'y a rien de vraiment nouveau chez ces cellules, sauf l'équilibre particulier de leurs fonctions.

Notre problème sera d'examiner les faits qui étayent ces trois hypothèses, d'autres peut-être, et d'étudier comment ces faits peuvent produire les résultats observés.

Les altérations aussi profondes que celles que nous observons résultent d'une longue chaîne d'événements. Quelques-uns d'entre eux organisent la mise en scène, d'autres préparent les acteurs à jouer leur rôle; il y aura ceux qui sont accessoires, et finalement ceux qui jouent le rôle définitif d'agents déterminants.

La mise en scène est certainement préparée *par l'hérédité*. Mon laboratoire, le laboratoire JACKSON à Bar Harbor, a, comme une de ses

fonctions les plus connues, l'élevage et la distribution d'une série de races standardisées de souris, élevées pour leur valeur comme sujet de recherche et surtout de recherche sur le cancer. L'an passé, nous avons fourni aux laboratoires du monde entier à peu près un million et demi de ces souris standards. Nous tenons en stock une soixantaine de ces races dont les caractères sont fixés sur une base presque homozygote par des mariages frère-sœur depuis des centaines de générations. Nous pourrions fournir une race qui produira la leucémie chez 95 % des animaux atteignant l'état adulte, ou une autre race parallèle qui ne sera jamais frappée de leucémie. Nous avons une race caractérisée par une haute fréquence du cancer du poumon, sans cancer de la peau, et d'autres qui seront souvent frappées du cancer de la peau mais jamais du poumon. Il est possible, par des croisements sélectionnés et un triage soigné, d'isoler n'importe quelle distribution ou combinaison de cancer au choix. Quelques-uns de ces spécimens dépendent d'une génétique complexe, d'autres sont déterminés par des gènes uniques. Il n'y a aucun doute que *l'hérédité* est importante dans le problème du cancer.

Mais la génétique de l'homme est tellement complexe et diverse, si hétérozygote, que les résultats obtenus dans la génétique des souris pourront n'avoir que peu de relations avec les problèmes humains. On peut dire qu'une origine héréditaire du cancer chez l'homme n'est pas démontrée. Mais, vu l'existence incontestable des cancers d'origine franchement héréditaire chez des organismes homozygotes, des mammifères comme nos souris, il est difficile de croire que les mêmes principes ne sont pas applicables à cet autre mammifère, l'homme.

Néanmoins, même chez ces souris, la dépendance de la génétique n'est pas toujours obligatoire. Des nuances légères du milieu extérieur, de l'histoire de l'individu, peuvent changer les résultats.

Chez l'homme, les cancers héréditaires, s'ils existent, ne peuvent s'expliquer que dans des termes généraux. Il existe, d'ailleurs, une autre sorte de génétique de cancer beaucoup plus simple, illustrée par exemple par certains cancers des plantes, chez les tabacs, et chez les poissons « *Sword Tail* ».

Il y a deux grands groupes de tabacs. Les espèces les plus connues, les tabacs de Virginie ont des feuilles larges et poilues, de grandes fleurs, un port érigé, une tige peu ramifiée et une consistance herbacée. Leur prototype est *Nicotiana tabacum*. Leur nombre haploïde de chromosomes est 9. L'autre groupe, dit Oriental (bien que tous les tabacs soient d'origine américaine), a de petites feuilles glabres, de petites fleurs, un

port d'arbrisseau, et est ramifié. Il a 12 chromosomes haploïdes; son prototype est *Nicotiana rustica*.

Dans la nature aucune espèce de tabac ne produit des tumeurs. Mais si nous hybridons des espèces choisies dans ces deux groupes, pour arriver à une combinaison de 9 paires de chromosomes avec 3 chromo-

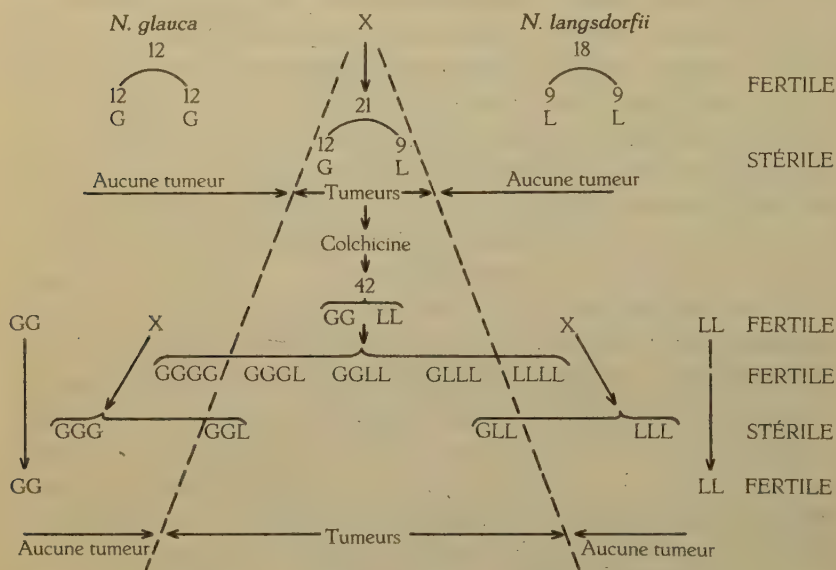


Fig. 15. — Schéma montrant la relation entre l'incidence des tumeurs et la constitution chromosomique de deux espèces de Tabac et leurs hybrides d'après KEHR.

somes impairs, soit 21 au lieu du nombre normal de 18 ou 24, nous aurons un hybride viable mais stérile et d'une physiologie instable. Les plantules semblent assez normales, mais partout où la plante est blessée, la blessure ne se cicatrise que par la production d'un cal exubérant qui se transforme en excroissance tumorale. Ces tumeurs deviennent de plus en plus généralisées; les plantes deviennent une masse de tumeur, finissent par ne plus pouvoir se nourrir et finalement meurent d'inanition. On a réussi à surmonter la stérilité de ces plantes par dédoublement des chromosomes au moyen de la colchicine et on peut ainsi étudier en détail la génétique de la tuméfaction. Les tumeurs ne se développent que dans des plantes qui possèdent un assortiment complet des chromosomes des deux parents; des combinaisons incomplètes ne s'accompa-

gnent pas de tumeurs. Mais ce sont surtout les blessures qui évoquent le caractère franchement tumoral. Si nous prélevons des tissus d'un de ces hybrides, les cultivons *in vitro* et, après quelques repiquages, les greffons sur des rameaux d'échantillons choisis chez les deux parents, nous voyons s'élaborer des nouvelles tumeurs, cette fois chez des plantes qui ne sont jamais tumorales de nature. Nous pouvons démontrer que ces tumeurs sont dérivées uniquement des cellules implantées. Il n'y a aucune transmission du caractère tumoral aux tissus sains. Cependant, des tissus d'origine non tumorale, pris chez l'un des parents et implantés,

UNE "CANCER-FAMILY", CHEZ LES PLANTES

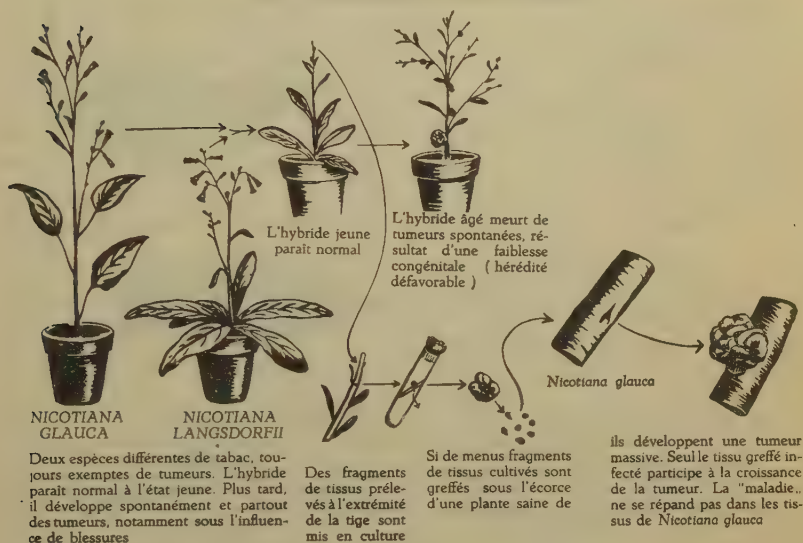


Fig. 16. — Schéma de l'emploi des cultures de tissus dans l'étude de tumorisation végétale.

soit tout de suite, soit après une période de sub-cultures ne produisent jamais de tumeurs. Les tissus de l'hybride sont eux-mêmes la source de la tuméfaction. Ces excroissances sont alors des vrais cancers, capables, dans nos mains, de produire des métastases.

Il y a un cas semblable chez les poissons. Chez certaines espèces géographiquement isolées de poissons « Sword Tails » provenant de l'Amérique Centrale, le comportement des mélanophores est stable. Ils ne produisent que très rarement des tumeurs. Mais si nous hybridons par exemple *Xiphophorus montezumae* et *X. hellerii*, les hybrides produiront

des tumeurs en grand nombre. Ces tumeurs, qui sont des mélanomes malins, se produisent selon une distribution dans laquelle nous pouvons déceler une origine génétique assez simple, 1 : 2 : 1. GORDON, qui a étudié ces tumeurs, a isolé des cultures de tissus à partir de ces hybrides.

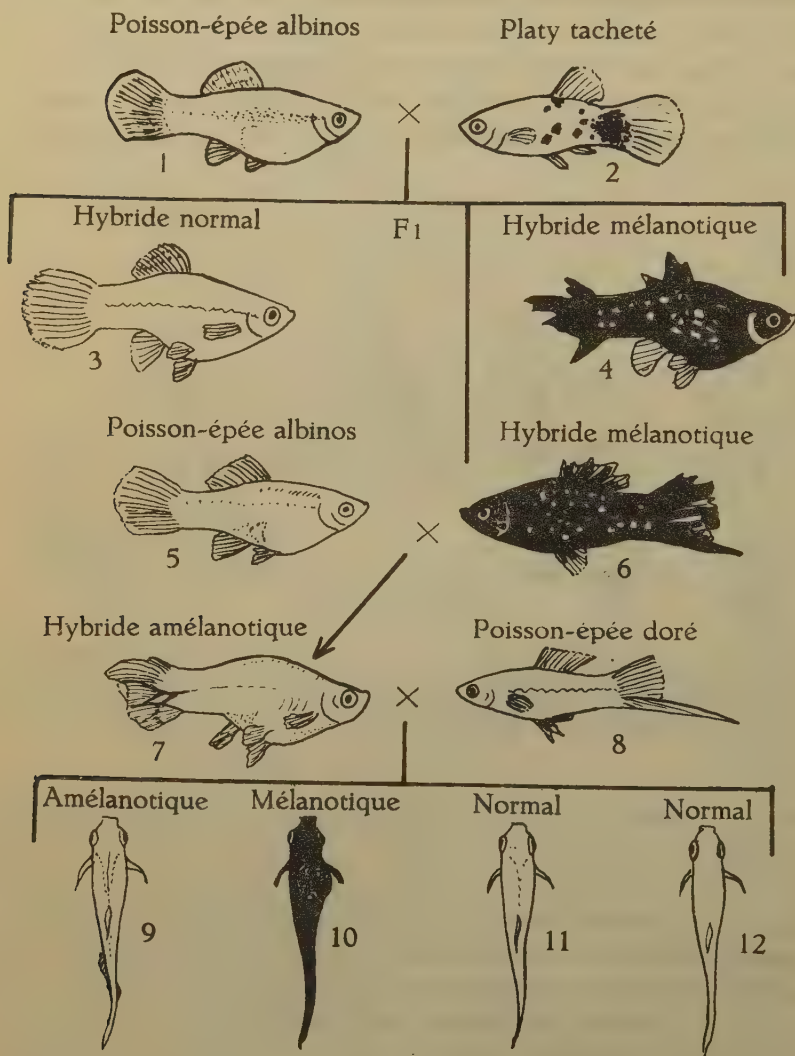


Fig. 17. — Schéma montrant la relation entre tumorigénèse et constitution génétique chez les poissons « Sword-Tails », d'après GORDON.

Ces cultures peuvent être transplantées dans les deux espèces parentes, exactement comme chez les tabacs. Les tumeurs produisent des « métastases artificielles » et sont donc de vrais cancers.

Il en est encore de même chez quelques races de souris. Les tumeurs de la glande lacrymale de l'œil sont extrêmement rares chez les souris de races stabilisées; néanmoins, dans le laboratoire de Heston, dix de ces tumeurs lacrymales se sont développées dans une seule série d'animaux dérivés par croisement des races C³H et C⁵⁷ Black. L'origine de ces tumeurs se trouve certainement dans le déséquilibre génétique de ces hybrides.

Il apparaît alors que les déséquilibres qui sont produits par l'hybridation peuvent constituer une base pour le développement des tumeurs cancéreuses chez des organismes aussi divers que les souris, les poissons et le tabac. La plupart de ces tumeurs ne sont pas déterminées par des gènes uniques, ne sont donc pas d'origine simple; seule l'instabilité chez ces hybrides établit un sol fertile pour les tumeurs. Le déséquilibre génétique est certainement un des facteurs importants qui prédisposent au cancer.

La génétique peut établir des prédispositions d'une autre sorte. Je vais en mentionner brièvement une ici pour revenir sur ce sujet avec plus de détails au moment voulu. Le *teratoma testis* est une tumeur heureusement assez rare chez l'homme. Souvent, dans cette maladie, un seul testicule est frappé. L'excroissance maligne est multiforme. Elle peut être os, muscle, poumon, intestin, peau, nerf, même toutes les glandes endocrines sauf les glandes sexuelles; ces différents tissus peuvent se développer ensemble ou non, simultanément ou alternativement. On cite souvent ces excroissances comme des exemples de « restes embryonnaires » en supposant qu'ils représentent des morceaux de tissus embryonnaires ou même des embryons complets, des jumeaux enveloppés, déformés de manière à être devenus méconnaissables par leur situation anormale.

Cette maladie frappe un pourcentage restreint mais assez régulier de souris d'une race portant le n° 129, étudiée dans notre laboratoire. Les tissus tumoraux prélevés et mis en culture continuent à montrer le même nombre et les mêmes séquences de développement de tissus variés. La « cause » de ces tumeurs est évidemment au fond génétique, mais pourquoi s'exprime-t-elle d'une manière tellement irrégulière? Nous y reviendrons plus tard.

Il y a d'autres « causes » du cancer. Quelquefois on trouve des indications dans l'épidémiologie. Prenons deux exemples, l'un chez l'homme,

l'autre chez les plantes. Il y a deux cents ans, il existait et peut-être existe-t-elle encore dans les grandes villes, la profession de ramoneur. A cette époque, on nettoyait les cheminées en se déplaçant dans ces conduits, presque toujours assez étroits. Seuls des individus de petite taille, c'est-à-dire surtout des enfants, pouvaient y ramper. En Angleterre, à cette époque, des garçons de 6 à 10 ans, déshabillés, étaient obligés de grimper à travers ces passages fuligineux. La suie était ainsi accumulée dans les aisselles humides des bras et des jambes, surtout dans l'aîne. Quand ces garçons devenaient trop grands pour ce travail, ils étaient engagés pour d'autres travaux. Le cancer du scrotum fut, à cette époque, une maladie assez répandue. Un médecin de Londres, Percival POTT, en 1780, remarqua que les victimes de cette maladie avaient presque toujours été ramoneurs dans leur jeune âge. Des cancers semblables, aux aisselles, sont eux aussi assez répandus chez les charpentiers des navires et chez les charbonniers, c'est-à-dire chez des hommes exposés aux suies, aux goudrons, aux créosotes d'origine végétale. On a peu à peu reconnu qu'il peut y avoir une relation obscure entre le cancer et les produits de distillation du bois. Dans les premières années de ce siècle, ces idées ont abouti aux travaux de KENNEWAY et de ses collaborateurs sur la chimie des goudrons, la séparation d'une série de produits dérivés du méthylcholanthrène et à la démonstration que ces substances sont de véritables carcinogènes chimiques. Ils produisent des cancers. Mais en sont-ils la « cause » ? S'il y a une véritable connexion, elle est obscurcie par un intervalle de quinze à trente-cinq ans entre le contact et la maladie ouverte.

Une application unique de méthylcholanthrène sur la peau d'un animal ne produit jamais le cancer. Des applications répétées, continuées pendant des mois, produisent finalement un ulcère et encore plus tard une excroissance en verrue. Ces verrues sont bénignes et disparaissent si on interrompt les applications. Si les applications sont reprises les verrues se développent d'une façon de plus en plus rapide; elles progressent, commencent à envahir les tissus sous-jacents et finissent par devenir malignes. L'altération est devenue irréversible. Et à ce moment, on peut transplanter les tumeurs chez des animaux sains. Le cancer est devenu métastatique.

De même, l'huile de Croton, un autre produit d'origine végétale, est un vésicant violent pour la peau animale. Il produit des ampoules, une destruction marquée des tissus, des cicatrices massives, mais ces ulcères en se cicatrisant ne deviennent jamais cancéreux. Par ailleurs, BERENBLUM a démontré que, chez certaines races de lapin (prédispo-

sition génétique), une application unique de méthylcholanthrène sur un ulcère provoqué par un contact bref avec l'huile de Croton, produit dans un assez haut pourcentage de cas, des cancers malins et foudroyants. Deux interventions qui, à l'état isolé, sont de caractère bénin, ont un résultat malin lorsqu'elles sont combinées sur un fond génétique favorable.

Il existe au moins un cas semblable chez les plantes. Il est des races de bactéries « Crown-gall » de virulences variées. Quelques-unes sont d'une malignité extrême, d'autres sont innocentes. Les races dites « atténuées » ne produisent pas de tumeurs; et elles sont également caractérisées par leur incapacité de provoquer quelques caractéristiques accessoires du crown-gall, comme l'épinastie des feuilles. Il y a une série de substances, les auxines, qui produisent régulièrement l'épinastie et qui, comme l'huile de Croton chez les animaux, peuvent engendrer des

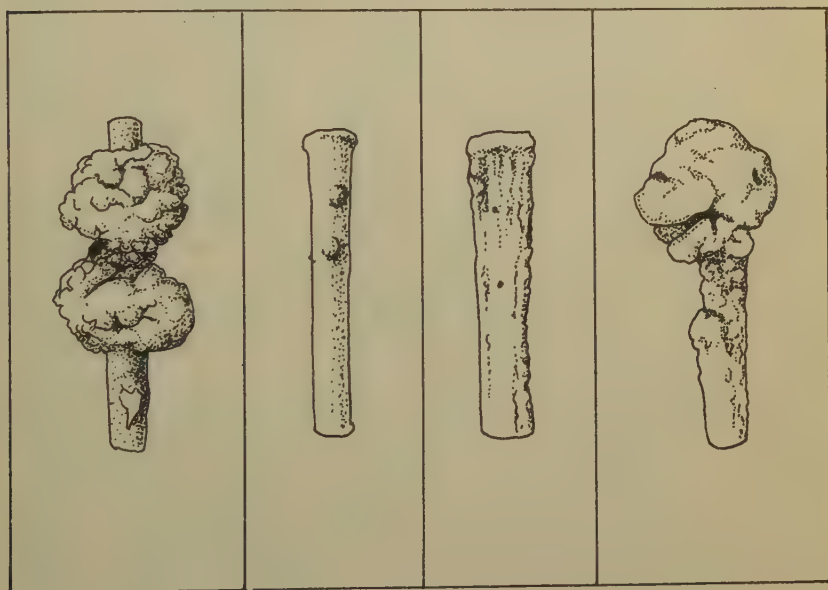


Fig. 18. — Exemples de synergisme dans l'induction de tumeurs « Crown-gall » de tomate. De gauche à droite : tige inoculée avec deux piqûres d'une culture d'*Agrobacterium tumefaciens* d'une race virulente; tige inoculée avec une race avirulente de la même bactérie; tige piquée avec de l'eau stérile, mais en même temps badigeonnée avec une auxine (AIA); tige inoculée avec des bactéries avirulentes et traitée simultanément par l'AIA. La combinaison de deux traitements relativement bénins a produit des tumeurs massives qui deviennent souvent malignes, d'après BRAUN et LASKARIS.

excroissances massives sans que celles-ci deviennent de véritables cancers. Les tumeurs dues aux auxines ne se développent plus après interruption du traitement. Les cécidies causées par des insectes sont de même nature; elles sont souvent massives et nettement caractéristiques, mais ne se développent plus après que l'insecte est parti. Ni les bactéries Crown-gall atténuées, ni les auxines ne produisent de cancers. Mais RIKER et, après lui, d'une façon encore plus schématique, BRAUN et LASKARIS, ont démontré que, si on inocule une plante avec des bactéries d'une race atténuée non tumorigène et qu'en même temps on traite avec une auxine le point inoculé, une excroissance massive se développera qui deviendra pleinement maligne, capable d'être transplantée et de se multiplier en tumeur en l'absence des deux excitants originaux. En combinant deux traitements bénins, nous sommes arrivés, une nouvelle fois, à un résultat malin.

Encore un autre exemple. Il y a des races de souris caractérisées par une fréquence élevée du cancer des ovaires. Si nous transplantons les ovaires dans la rate, ils ne deviennent pas cancéreux, mais des tumeurs naissent dans les glandes surrénales des animaux opérés. Evidemment, la rate détruit les hormones gonadotropes venant dans la circulation générale et issues de la pituitaire, de telle sorte qu'elles ne peuvent pas agir sur les ovaires transplantés, tandis que les ovaires continuent à déverser leurs hormones folliculaires dans la circulation où elles ne sont pas détruites. Dans ces conditions, la circulation charrie des quantités anormales d'hormones folliculaires adrénotropes et qui, à cette concentration, deviennent carcinogènes. On peut éviter la formation des tumeurs des ovaires, *in situ* ou dans la rate, et aussi des tumeurs des surrénales, en enlevant la pituitaire, probablement en abaissant le taux des hormones gonadotropes ou adrénotropes dans le système. Il est certain que ces hormones fonctionnent au moins comme facteurs accessoires dans la production des cancers. Ces expériences ont abouti à l'introduction, dans la chirurgie, d'un traitement des cancers du sein, même métastatiques et inopérables. Cette intervention, l'enlèvement concomitant des ovaires et de la pituitaire a abouti dans à peu près le tiers des cas à une régression spectaculaire et même à la disparition de métastases bien établies dans les os. Dans d'autres cas, l'intervention n'a aucun résultat; nous pouvons postuler que ce sont des cas où les agents actifs de la transformation cellulaire et de la progression maligne sont autres que le déséquilibre hormonal.

J'ai évoqué ces exemples variés pour insister sur une caractéristique du cancer que je trouve importante et qui vaut d'être relevée :

les facteurs que nous reconnaissons ne sont pas des facteurs nets et spécifiques; ils ne sont pas les causes de la maladie mais plutôt des dérangements non spécifiques de l'organisme, de la machine elle-même. Nous avons probablement tort de parler d'une substance chimique, d'une hormone, ou d'une blessure, comme « causes » du cancer. Celles-ci sont plutôt les mains qui tirent sur la détente, déchargeant un explosif déjà préparé ou détendant un piège dressé par des mécanismes antérieurs.

Que sont ces mécanismes antérieurs? Nous avons déjà supposé et, je crois, avec raison, qu'il doit exister des différences de métabolisme entre la cellule normale et la cellule tumorale. La recherche de ces différences jusqu'ici a été infructueuse. La généralisation la plus acceptée est celle de WARBURG : que la cellule cancéreuse est caractérisée par une respiration anaérobie, la cellule normale étant plutôt aérobie, et que la cellule cancéreuse peut dépasser ses voisines normales en vertu de sa capacité de prospérer dans des conditions nuisibles à la vie de cellules normales. Des recherches plus approfondies ont démontré l'existence de plusieurs espèces de cellules à respiration anaérobie, par exemple celles du rein embryonnaire, qui ne sont pas et ne deviennent pas cancéreuses. Cette généralisation n'a pas résisté à l'examen.

A ce point, revenons au problème du *teratoma testis* que j'ai mentionné antérieurement. La race de souris atteinte de cette maladie rare, a tendance à produire une atrophie unilatérale du testicule; c'est plutôt le testicule gauche qui est frappé. A peu près 20 % des petits sont nés avec un seul testicule ou un testicule beaucoup plus petit que l'autre. Un examen des embryons montre qu'assez tôt dans le développement prénatal, il y a souvent une hémorragie dans le testicule gauche. Si l'hémorragie est sévère, le testicule se nécrose et disparaît complètement. Une hémorragie moins profonde produit une cicatrice suivie de régénération. C'est à partir des tissus régénérés que se développent les tératomes. La régénération est, au début, parenchymateuse. Mais il peut s'y produire une différenciation de plus en plus poussée. Muscle, os, peau, épithélium cilié, nerfs peuvent se suivre l'un après l'autre ou peuvent se développer simultanément. Une tumeur qui se différencie prématurément sera plutôt constituée d'une seule sorte de cellules, cellules des muscles par exemple, qui deviendront bientôt stables, tandis que les tumeurs qui se différencient tardivement sont souvent plus complexes et évoluent quelquefois jusqu'à devenir malignes et mêmes métastatiques.

Que peuvent nous enseigner ces tératomes sur les cancers en général? Ils sont limités à une seule race de souris; donc la constitution génétique *prédispose* à ces cancers. Cette prédisposition s'exprime

par des hémorragies prénatales bien localisées, c'est-à-dire par une blessure et une source d'irritation chronique et locale. La vitesse du développement modifie profondément le résultat. Si l'hémorragie se guérit vite, on n'aura qu'une cicatrice bénigne, sans aucune tumeur. La guérison plus lente, suivie d'une différenciation précoce, a également pour résultat quelque chose de bénin, une masse limitée d'os, de muscle ou de peau. La cicatrisation lente accompagnée d'une différenciation tardive, aboutit à un résultat plus grave. On trouve dans cette seule maladie, heureusement rare chez l'homme, tous les degrés d'expression de la maladie que nous appelons « cancer ».

Comparons maintenant cette maladie avec une autre que nous étudions également dans mon laboratoire, cette fois une maladie des plantes. Des exemplaires de l'Epicéa blanc, *Picea glauca*, portent, dans certains endroits très localisés des tumeurs massives sur les rameaux, les branches, les troncs et même les racines. Ces tumeurs résultent d'une modification profonde de cellules isolées, au niveau des bourgeons ou des radicelles. Chez les plantes, contrairement à ce qui se passe chez les animaux, les cellules sont fixes. Elles ne se déplacent pas et ne sont pas remplacées quand elles meurent. On peut donc tracer la descendance de chaque cellule à travers la vie d'un arbre. Chaque cellule altérée, se trouvant à côté de la moelle, donne naissance par division répétée à un secteur de cellules ayant toutes la même constitution aberrante. Au début, on observe une file unique; les divisions d'orientations variées font ensuite élargir le secteur en cône aplati. Les cellules modifiées se multiplient pendant des périodes plus longues que leurs voisines normales, produisant des anneaux annuels plus larges. Il en résulte une extrusion progressive de tissus produisant en premier lieu une petite bosse, puis une excroissance arrondie, et finalement une tumeur globuleuse.

Nous avons des raisons, que je ne vais pas développer ici, de croire que l'altération de la cellule originelle de ces tumeurs est produite près d'une petite blessure ou d'une irritation chronique causée par la présence prolongée, dans le bourgeon, de l'appareil suçant d'un petit insecte, *Chermes abietinis*. Mais le changement, contrairement à toutes les autres cécidies déjà connues, devient permanent; les cellules issues d'une telle cellule altérée ne reviennent pas à l'état normal après le départ de l'insecte.

On trouve ces tumeurs uniquement sur l'Epicéa blanc, et uniquement sur des arbres se trouvant dans des endroits caractéristiques, sur-

tout des endroits voisins de la mer, près des sources sulfureuses, dans des régions où le niveau de l'eau dans le sol est excessivement haut.

Si nous comparons ces deux tumeurs, le *teratoma testis* chez la souris, et la maladie tumorale chez l'Épicéa, nous trouvons en fait toute une série de parallèles qui peuvent ou non avoir une signification. Les deux maladies sont limitées à des races spéciales de victimes. Elles se produisent près d'une lésion chronique d'un type bien défini. Elles progressent par une série d'étapes bien établies. Leur malignité dépend de la vitesse de différenciation. Un fait frappant chez l'arbre, mais masqué chez la souris, est la différence marquée, anatomiquement ou physiologiquement, entre la cellule altérée de la tumeur et sa voisine normale. La tumeur est une masse de cellules étrangères, autant qu'une greffe. Une métastase est, en fait, une greffe dans laquelle les cellules étrangères sont transportées par le flux sanguin, à partir d'un site d'origine, pour s'implanter ailleurs. L'ensemble hôte-tumeur est une chimère. Les chimères artificielles qu'on a récemment constituées en greffant la moelle osseuse saine sur des animaux atteints par des rayons nocifs, peuvent nous enseigner beaucoup de choses. Quand on greffe, par voie intrapéritonéale, la moëlle d'un rat sain sur une souris irradiée, les cellules migrent sélectivement vers les sites osseux; elles sont alors organotrophes. Elles ne sont pas rejetées par le corps. Elles ne peuvent, néanmoins, se multiplier assez rapidement dans un corps d'espèce étrangère pour maintenir l'équilibre et sont peu à peu remplacées par des cellules de moëlle homéotypique régénérées. Mais la moëlle de souris, transplantée chez une souris irradiée, même d'une autre race, s'intègre complètement dans le système de l'hôte, et peut s'y multiplier à une vitesse qui lui permet de maintenir l'équilibre chimérique. Une cellule cancéreuse, quelles que soient ses caractéristiques différenciées, est toujours une cellule de la même espèce, variété et du même individu que son hôte. Elle ne sera point rejetée. Elle n'est pas une cellule « parasite ». Les différences se rapprochent certainement de celles qui sont déterminées par des gènes unitaires, bien que, en l'absence d'un mécanisme somatique reconnaissable par triage des gènes, nous n'ayons aucun moyen d'analyser l'origine de ces différences.

LES ORIGINES DU CANCER

II. DES ORGANISMES ET DES VIRUS

Le cancer est provoqué par des agents chimiques ou physiques agissant sur un matériel préparé par des facteurs héréditaires. Une autre « cause » ayant en ce moment la faveur du public, est celle constituée par des organismes et surtout les virus. DURAN-REYNALS, le protagoniste de cette façon de voir, a voulu soutenir la thèse que tous les cancers sont causés par des virus, comme ERWIN SMITH, il y a cinquante ans, a voulu voir en tout cancer une maladie bactérienne. Ils ont tous les deux probablement tort.

Il existe incontestablement des cancers à virus, même chez l'homme. La maladie de Hodgkins, maladie des lymphatiques ressemblant beaucoup à la leucémie, a été considérée successivement comme d'origine bactérienne, mycosique, ou virale. La preuve la plus forte d'une origine virale, d'après les études en culture de tissus de GRAND, JACQUEZ et autres, se trouve dans le fait qu'on rencontre souvent, sinon toujours, des corps d'inclusion caractéristiques dans les cellules malades. Il y a également la démonstration de BARNS et FURTH prouvant qu'une maladie de la souris ressemblant du point de vue clinique à la maladie d'Hodgkins est transmissible au moyen d'un filtrat des cellules atteintes. Les cellules Hodgkins ont aussi en culture la consistance gluante caractéristique des cellules inflammatoires plutôt que des cellules de véritables tumeurs. Ce sont des évidences indirectes.

L'emploi récent de cellules saines au départ, comme substratum pour la culture, la séparation et l'étude des virus doit, je le pense, ouvrir un terrain presque encore inexploré pour l'étude des tumeurs à virus. Etienne LASFARGUES a déjà commencé, comme d'autres à Paris, des études du cancer viral du sein chez la souris. Il y trouve aussi les corps caractéristiques des virus.

La première tumeur dans laquelle on a reconnu une origine incontestablement virale était un sarcome des volailles. C'est une maladie maligne, tuant ses victimes en quelques mois ou même quelques semaines. Elle est transmissible en série par greffe et une maladie généralisée est produite à partir de l'inoculation d'un filtrat acellulaire. Quand les

cellules d'un sarcome de Rous sont cultivés *in vitro* au contact de cellules normales, les cellules sarcomateuses envahissent et dévorent les cellules normales plus rapidement que l'infection ne peut transformer celles-ci en cellules elles-mêmes tumorales. Les cellules normales, cultivées dans un sérum d'une volaille infectée, seront profondément transformées en quelques heures. On ne peut infecter des volailles adultes par un filtrat acellulaire qu'en employant comme source de virus des cellules de la même espèce que l'hôte, mais cette barrière spécifique n'existe pas pour des volailles jeunes; on peut transmettre la maladie librement entre des poulets, des canards et des dindons en prenant pour hôte des individus âgés de moins d'un jour. DURAN-REYNALS, peu avant sa mort tragique d'un cancer généralisé il y a quelques mois, a démontré qu'en injectant le virus de Rous dans des embryons *in utero* chez des souris ou des lapins, il pouvait produire une maladie hémorragique progressive. Nous avons ici une maladie certainement d'origine virale, mais de caractère multiforme; le virus est d'une spécificité très limitée chez des adultes, d'une faible spécificité chez des jeunes, et presque sans spécificité chez des embryons. La relation est évidemment causale; elle n'est certainement pas simple.

Une seconde maladie à virus est le papilloma du lapin de Shope, que l'on connaît dans le centre-ouest des Etats-Unis. La maladie produit chez le grand lièvre « Jack Rabbit » des excroissances éparpillées verruqueuses et généralement bénignes. Chez le petit lapin « Cotton-tail » on peut établir, par inoculation d'un extrait de tissus infectés du « Jack Rabbit », une infection chronique mais sans aucune maladie déclarée. Chez le lapin domestique, ces verrues bénignes se transforment quelquefois, mais seulement dans la vieillesse, en tumeurs malignes, envahissantes et parfois métastatiques.

Mais on peut modifier profondément cette séquence au moyen de facteurs externes. Si nous prenons un lapin qui porte une infection généralisée mais encore bénigne, même silencieuse et, si au moyen d'un perce-bouchon frappé contre un bloc de bois nous transperçons l'oreille provoquant ainsi une blessure irrégulière, les tissus étant écrasés, il se formera dans les tissus cicatriciels autour du trou une série de verrues qui commenceront par envahir les tissus sous-jacents et deviendront souvent malignes. Il en est de même si on badigeonne l'oreille infectée avec du goudron ou même de l'essence de térébenthine. Au moyen d'une blessure simple ou d'une irritation bénigne, on peut transformer en cancer un papilloma de progrès lent et bénin.

Une troisième tumeur à virus se trouve chez un amphibien. La grenouille « Léopard » de l'Amérique du Nord est parfois frappée par une tumeur qui se trouve dans tous les organes mais surtout au niveau des reins. On a cultivé les tissus malades dans l'œil de la grenouille et dans des cultures de tissus. *In vitro* ils se comportent tout à fait comme des tissus normaux tout en montrant des inclusions caractéristiques, mais dans l'animal ils se montrent malins par leur capacité d'envahir et de tuer. Et DURYÉE a démontré qu'on peut produire la maladie à partir d'un extrait acellulaire de cellules infectées et que le caractère de la maladie est déterminé par des différences génétiques.

Un quatrième cas est le carcinome « agent du lait » chez la souris. La plupart des femelles de la race C₃H qui survivent pour devenir adultes, sont atteintes d'un carcinome du sein. On a donc supposé que ce carcinome était d'origine héréditaire. En 1939, BITTNER et MURRAY,

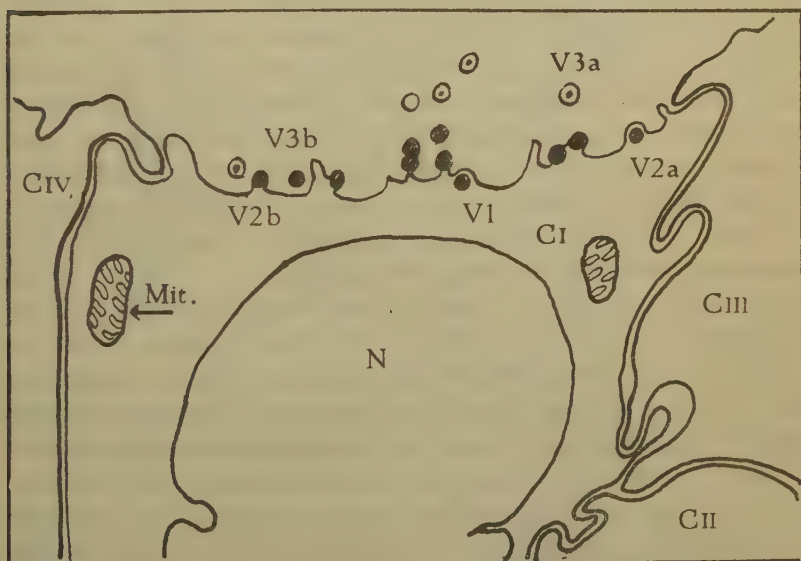


Fig. 19. — Micrographie électronique d'une section dans des cellules d'épithélium de mamelle d'une souris saine, cultivées *in vitro* et infectées avec une préparation filtrée, prélevée chez une autre souris souffrant d'un carcinome viral du sein. En haut, bordure de cellules sur le milieu extérieur. V₁ : corps viral dans le cytoplasme de l'hôte; V₂ : virus en train de s'échapper vers l'extérieur, entouré d'une vésicule de membrane cellulaire dans laquelle sera inclus un résidu de protoplasme; V_{3a} : virus libre, constitué de trois parties, un corps central proprement dit, une gaine de cytoplasme de souris et une membrane extérieure provenant également de la souris; N : noyau; Mit : mitochondrie; CI, II, III, IV : quatre cellules de souris.
 X 30.000, d'après LASFARGUES et autres.

à Bar Harbor, ont découvert que, si les nouveaux-nés de cette race sont donnés à des nourrices d'une race résistante au carcinome du sein avant de têter leurs propres mères, ils restent indemnes du carcinome. Et vice-versa, si les enfants de race résistante sont donnés aux nourrices C₃H, ils deviennent cancéreux à l'âge adulte. Une seule tétée suffit à produire la maladie. Evidemment un agent d'infection passe dans le lait des femelles C₃H, s'accumule dans le corps de l'enfant, de préférence dans les glandes mammaires et, à maturité, produit le carcinome. Il n'y a aucune maladie évidente chez les mâles, ni dans les tissus femelles hors des mamelles. On a pu démontrer plus tard que la maladie ne dépend pas des cellules caduques du sein, mais qu'elle est transmise par un filtrat du lait. Les cellules prélevées sur des animaux infectés et cultivées *in vitro* montrent des inclusions globulaires typiques d'autres maladies à virus. La « cause » de la maladie est évidemment un virus, mais quel virus? Il est limité à une seule race de souris; il a donc une dépendance génétique. Il produit des tumeurs uniquement chez les femelles, à un endroit choisi, les glandes mammaires; il est donc limité par le sexe et est spécifiquement organotrophe (on trouve le virus ailleurs aussi, mais non en grande quantité). Et, entre l'infection et ses manifestations, la maladie a une période d'incubation qui équivaut à 20 à 30 années de la vie humaine. On a trouvé, même dans ces limites, toute une série de facteurs accessoires, endocriniens et nutritionnels. C'est encore une maladie aux « causes » très complexes.

Il y a aussi au moins une tumeur à virus chez les plantes. La luzerne produit des nodules sur ses racines par suite de la présence de bactéries nitrifiantes. Il y a quelques années BLACK, de l'Institut Rockefeller, remarqua des nodules sur les branches de ces plantes. Il existe des nodules bactériens aériens chez *Shepherdia* et chez quelques autres arbustes mais pas chez la luzerne. Des coupes ont montré des nodules sans bactéries; ils n'étaient pas non plus produits par des nématodes. Des recherches plus approfondies ont établi que ces nodules résultent d'une infection virale généralisée, le virus étant ordinairement transmis par des insectes. On peut le transmettre aussi par greffage et l'infection peut s'établir chez un assez grand nombre d'espèces, y compris *Rumex acetosa*. Ces tumeurs ressemblent aux tumeurs génétiques du tabac à un égard : bien que le virus envahisse toute la plante, les tumeurs ne se développent qu'au niveau d'une blessure. Les radicules, en sortant à travers l'écorce, écrasent les cellules corticales produisant des « blessures »; une tumeur se développe autour de la base de chaque radicule. Les tumeurs résultent aussi de blessures aériennes, à côté de morsures d'insectes et au

point où les rameaux sont écrasés contre le bord du pot. Cette combinaison d'une infection générale bénigne qui devient maligne sous l'influence d'une blessure, elle aussi bénigne, rappelle encore le papilloma du lapin de SHOPE et les expériences de BERENBLUM sur les cancers d'origine chimique. BLACK a fait des cultures de tissus de ces tumeurs; elles montrent des caractéristiques qui nous font penser aux autres cancers



Fig. 20. — Tige de luzerne atteinte d'une tumeur virale. Le virus s'est généralisé; cependant, la tumeur est localisée uniquement sur les traces d'une blessure pratiquée le long de la tige; d'après BLACK.

végétaux. Ces tissus sont caractérisés par un métabolisme spécial qui mérite de retenir notre attention. Les tissus des tumeurs à virus de *Rumex* produisent une amylase; ils peuvent donc être cultivés sur des milieux amidonnés sans sucre. Les tissus tumoraux ont donc un avantage sur leurs voisins normaux. Malheureusement, nous n'avons pas encore trouvé le moyen de libérer ces cultures de leur virus comme nous pouvons libérer les cellules du crown-gall de leurs bactéries; ainsi des expériences de greffage sur des plantes saines ne donnent pas la preuve nette de leur caractère cancéreux.

A côté des tumeurs à virus, il existe d'autres tumeurs « causées » par des organismes. L'une d'elles, la tumeur à *Cysticerque* du foie de rat, peut nous intéresser et nous instruire. Si un rat est infecté par des œufs du *Taenia*, les larves du ver migrent dans le foie et, après une période d'inflammation de 5 à 10 jours, elles sont enveloppées dans des kystes bien délimités. Après 8 à 22 mois, les enveloppes de certains

kystes deviennent sarcomateuses; les tumeurs peuvent alors être transplantées en série avec tous les signes de la malignité. BULLOCH a démontré que le moment de transformation de l'état normal à l'état sarcomateux, et le pourcentage des kystes qui deviennent malins sont en relation directe avec le nombre total des kystes dans le foie, c'est-à-dire que la malignité est une fonction directe de l'intensité de l'inflammation et par conséquent du nombre des mitoses dans les tissus atteints. Chaque mitose représente une chance unique pour le changement malin et, même avec une incidence faible de changements par mitose, la probabilité d'une telle altération devient presque absolue si le nombre des mitoses est suffisamment grand. Des cultures de tissus isolées à des stades variés du développement de ces kystes montrent des figures anormales assez nombreuses même dès le quinzième jour après l'implantation des larves, ce qui est en contraste marqué avec l'inflammation bénigne produite par des substances non-spécifiques telle que la poudre de moutarde. Les sécrétions de larves, donc n'élèvent pas seulement le taux des mitoses mais aussi dirigent ces mitoses dans des voies anormales. Mais nous ne connaissons absolument rien sur la nature de ces influences.

Et finalement, prenons un exemple éclatant, encore chez les plantes. Les fermiers et les horticulteurs connaissent depuis longtemps une maladie assez sérieuse chez certains arbres et arbustes, produisant des excroissances massives et tumorales, surtout au niveau de la surface du sol. Les collets, que nous appelons en anglais « crowns », des framboises et des pommiers sont particulièrement sensibles à cette maladie qui se trouve aussi chez la betterave et d'autres plantes herbacées. Au commencement de ce siècle, Erwin SMITH a démontré que cette maladie était le résultat d'une infection par des bactéries de l'espèce *Agrobacterium tumefaciens*. SMITH fut convaincu que la maladie était un vrai cancer et il croyait, par analogie, que tous les cancers, y compris ceux de l'homme, avaient une origine bactérienne. Ses collègues médecins ne pouvant pas admettre l'origine bactérienne des cancers humains, la nature de ces excroissances fut âprement discutée. EWING, le cancérologue descriptif américain, les classait comme des « teratomes d'irritation ». Suivant EWING, la maladie fut longtemps considérée comme une hyperplasie et hypertrophie résultant uniquement de l'irritation continue due à la présence de bactéries dans les tissus. On a supposé que les cellules des tumeurs n'étaient douées d'aucune autonomie et qu'elles étaient incapables de produire des nouvelles tumeurs sauf au moyen des bactéries déplacées dans les tissus.

Cependant ces excroissances montraient des caractéristiques énigmatiques. On ne pouvait pas toujours trouver des bactéries, même dans des tissus de tumeurs en pleine croissance. Chez certaines plantes, surtout des Composées, on trouvait souvent des tumeurs secondaires à quelque distance du lieu d'inoculation, et de ces tumeurs secondaires on ne pouvait que rarement isoler des bactéries. SMITH, partageant avec les médecins la conviction que ces tumeurs ne peuvent continuer à se développer qu'en présence de bactéries, tira la conclusion que les bactéries sont très réfractaires aux méthodes courantes chez les bactériologistes. D'ailleurs un bactériologiste danois, JENSEN (le même, qui le premier a transplanté les tumeurs animales, le « Sarcoma de Jensen » chez le rat) tira de ses propres études une autre conclusion. JENSEN trouva, chez des betteraves à sucre, des tumeurs d'un aspect les rapprochant du crown-gall mais desquelles, comme des tumeurs secondaires des Composées, il ne pouvait pas isoler les bactéries. Néanmoins il réussit à propager ces tumeurs en les greffant sur des hôtes nouveaux et démontra que les tumeurs issues de ces greffes étaient constituées uniquement de cellules provenant des tissus transplantés; ainsi il n'y avait aucune infection des tissus de l'hôte. JENSEN émit la suggestion, révolutionnaire à cette époque, que ces tumeurs doivent être considérées comme de vrais cancers, pas, comme l'a pensé SMITH, parce que tous les cancers sont d'origines bactérienne, mais parce que, étant d'origine bactérienne, les crown-galls peuvent perdre leur agent d'infection sans perdre leur capacité de croissance tumorale. Elles étaient, dès lors, semblables aux tumeurs à Cysticerques déjà décrites.

A cette époque, en 1916, la suggestion de JENSEN tomba sur un sol stérile et fut oubliée.

Vingt années plus tard, un de mes collègues à l'Institut Rockefeller, BRAUN, reprit l'étude du crown-gall. En étudiant la production de tumeurs par de petits nombres de bactéries, il réussit à obtenir des tumeurs sur des plantes inoculées avec quatre cellules bactériennes et a pu retrouver des bactéries dans des tissus inoculés ne comportant pas plus de dix bactéries. Evidemment, avec ces méthodes, les bactéries de crown-gall n'étaient pas du tout aussi réfractaires que SMITH l'avait pensé. Reprenant alors l'étude des tumeurs secondaires des Composées, BRAUN, comme SMITH, n'a pas pu y trouver de bactéries, même par ces méthodes d'une exactitude démontrée. La question de la stérilité ou de la non stérilité de ces tumeurs était d'une telle importance qu'il était nécessaire d'épuiser toutes les possibilités de preuves. BRAUN me demanda de venir y ajouter les méthodes de culture des tissus récemment développés (1937).

Nous avons en premier lieu isolé des souches de tissus des tumeurs secondaires de Tournesol, plus tard de l'Artichaut, du Souci, de *Vinca rosea* et d'autres plantes. Ces tissus étaient mis sur un milieu que nous avons déjà démontré être excellent pour la croissance des bactéries *Agrobacterium tumefaciens*, milieu exempt d'auxine, ainsi incapable de permettre la croissance des tissus normaux de Tournesol. Si alors il y avait des bactéries dans les tissus, elles devaient croître avec exubérance pour étouffer les cellules hôtes. Il n'en fut rien. Des bactéries ne

UN CANCER ENVAHISSANT CHEZ LES PLANTES

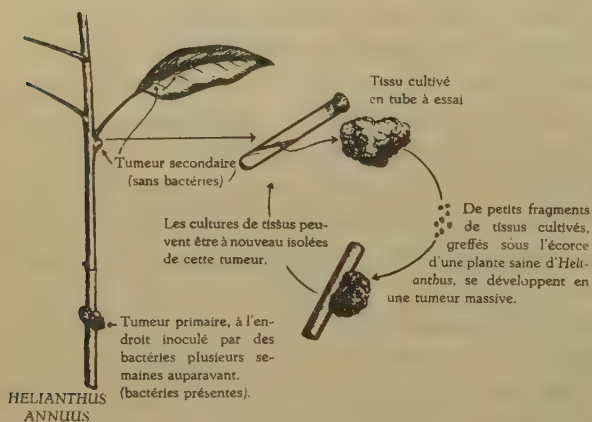


Fig. 21. — Représentation schématique d'une tumeur bactérienne de Tournesol; d'après WHITE et BRAUN.

se montrèrent pas, ni dans des tissus fraîchement isolés des plantes, ni après une croissance exubérante de ces tissus pendant des mois et des années, par des repiquages répétés sur ce milieu. La souche ainsi isolée se multiplie encore aujourd'hui, après seize années. Les tissus tumoraux, pris de cette souche et greffés sur des plantes saines, produisent régulièrement des tumeurs nouvelles. Les tissus de Tournesol se greffent aussi bien sur l'Artichaut, des cultures nouvelles pouvant être isolées de ces tumeurs de greffe sur l'Artichaut et après de nombreux repiquages peuvent être regreffées sur le tournesol. Dans toutes ces expériences, nous ne retrouvons aucune trace de bactéries. Suivant les principes de KOCH nous avons démontré que l'agent tumoral est constitué

par les cellules des tumeurs elles-mêmes, non par les bactéries. Des expériences réalisées pour démontrer l'existence d'un virus ont échoué complètement mais ont en même temps démontré pleinement que des cellules tumorales intactes et capables de se multiplier sont nécessaires pour la transmission d'un hôte à un autre.

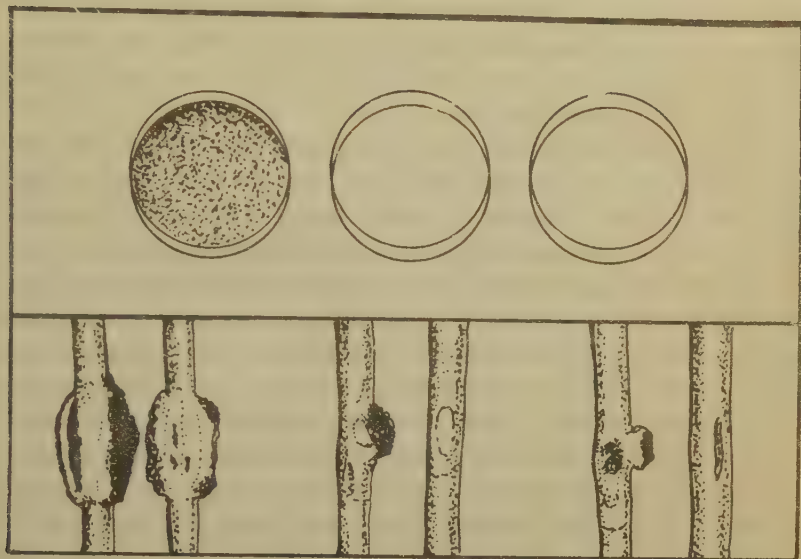


Fig. 22. — Expérience de recherche d'un virus dans les tumeurs bactériennes de Tournesol. En haut, plaques préparées avec tissus triturés; à gauche, d'une tumeur primaire se développant au point d'inoculation; au centre, d'une tumeur secondaire se développant à quelque distance du point d'inoculation; à droite, d'une culture de tissu isolé d'une tumeur secondaire. Il y a des centaines de colonies bactériennes dans la plaque à gauche; aucune dans les deux autres.

En bas, tiges de Tournesol dans lesquelles sont greffés des tissus; à gauche, de tumeur primaire; au centre, de tumeur secondaire; à droite, de culture de tissu. Dans chaque paire, l'échantillon de gauche a été greffé à l'aide d'un fragment solide, celui de droite a été inoculé par du tissu broyé avec du sable. Pour les tissus de tumeur bactérienne, le broyage n'a eu aucun effet, puisque les tumeurs résultent des bactéries qui ne sont pas détruites par le traitement, tandis que pour les autres, le broyage, en détruisant les cellules du tissu de Tournesol, a détruit la capacité de susciter des tumeurs. Donc, ce sont les cellules intactes qui sont à l'origine de ces tumeurs. Nous ne trouvons ici aucune trace de virus; d'après

WHITE et BRAUN.

Les cellules tumorales sont donc autonomes, capables de croître sans arrêt en l'absence de l'agent excitant, et capables de produire des métastases, c'est-à-dire des tumeurs nouvelles en des endroits éloignés

chez des individus primitivement sains. Puisque les mécanismes de transport de cellules n'existent pas chez les plantes, nous sommes devenus nous-mêmes des vecteurs artificiels. Je pense que nous avons établi d'une façon incontestable la nature tumorale, maligne et cancéreuse du « crown-gall » et démontré que l'altération subie par les cellules des plantes en devenant « crown-gall » est essentiellement de la même sorte que celles qui touchent les cellules cancéreuses chez l'homme et chez les animaux. Les idées de JENSEN trouvent ici une confirmation complète, tant d'années après sa mort et celle de SMITH.

Cette maladie est devenue un de nos plus importants outils pour l'analyse des causes du cancer. Une bactérie produit régulièrement l'altération des cellules normales en cellules malignes. Mais, en contraste avec les virus du papillome de SHOPE ou du sarcome de ROUS et d'autres déjà mentionnés, cet agent peut être éliminé. Cette stérilisation peut survenir sans cause évidente, mais nous pouvons aussi la produire expérimentalement par traitement à la chaleur. Les bactéries sont détruites quand elles sont maintenues dix jours à 40° C, température qui laisse intacts certains tissus infectés. Et, contrairement aux animaux, les plantes supportent une échelle assez large de température sans retard ou trouble sérieux. De telles expériences ont démontré que la destruction des bactéries n'est pas obligatoire pour l'étude des séquences de la tuméfaction. L'altération de la cellule normale en cellule tumorale est complètement inhibée à des températures supérieures à 30° et est minimale au-dessous de 22°, bien que les bactéries continuent à se multiplier à ces températures. La période critique se trouve entre la 18^e et la 72^e heure après l'inoculation. Aucune altération importante ne survient ni avant ni après cette période. Mais les tumeurs ne deviennent évidentes qu'après une période d'au moins dix jours. Un stimulus d'une durée inférieure à deux jours à une température limitée de l'ordre de 8° produit une altération permanente dans le comportement des cellules, une altération maligne. La réalité et le caractère de cette altération ont été établis par des cultures de fragments prélevés sur des plantes à des moments divers après le traitement. Ces cultures ont montré toute une série de différences, intéressant non seulement leur vitesse de croissance et leur capacité de produire des tumeurs par greffage, mais aussi le degré et la nature de la différenciation produite.

La production de ces tumeurs dépend d'un agent spécifique biologique, une bactérie, qui agit pendant une période limitée et à une température bien définie. La période initiale dans laquelle il n'y a pas d'effet semble dépendre du nombre des mitoses et rappelle le niveau

d'inflammation chez les tissus animaux. On voit ceci dans le fait que, si l'on provoque une blessure stérile et qu'on inocule des bactéries dans la blessure 72 heures plus tard, il n'y a pas de retard; l'altération tumorale commence immédiatement et la période critique de température convenable commence elle aussi à ce moment, c'est-à-dire que l'altération tumorale est déterminée par le moment de la blessure, non par le moment de l'inoculation. La période de retard représente, alors, une altération chez l'hôte, pas chez la bactérie. On peut, de plus, rendre sensible des cellules-hôtes à la stimulation venant de souches atténuées, bénignes de bactéries en traitant l'hôte avec de l'auxine. Et KLEIN a démontré récemment que, dans un hôte convenablement traité, le rôle des bactéries peut être remplacé par des extraits bactériens dont la nature chimique suggère qu'ils sont, ou au moins qu'ils contiennent de grandes quantités d'acides nucléiques. Ce sont peut-être des substances semblables à celles qui provoquent la transformation de certaines bactéries, notamment les Pneumocoques, d'un type métabolique et infectif en un autre type. Le processus de tuméfaction résulte donc encore d'une série complexe d'événements dans lesquels il est impossible d'attacher le nom « cause » à l'un ou l'autre élément particulier du complexe. Nous ne pouvons pas dire qu'un virus ou une bactérie ou un ver ou une blessure ou un produit chimique est la « cause » de la malignité.

C'est cette absence même de spécificité qui permet toutes les discussions. L'hérédité joue un rôle indubitable, mais surtout en établissant une tendance plutôt qu'en déterminant quelque chose de certain. Les facteurs chimiques et physiologiques, les déséquilibres hormonaux, les blessures et les irritations quelconques viennent jouer sur le fond héréditaire et s'ajoutent ainsi aux causes de la tuméfaction chez les individus susceptibles; ils sont d'ailleurs impuissants chez ceux qui, pour des raisons d'hérédité ou parce que les conditions connexes manquent, sont résistants à leurs effets. La température peut jouer un rôle important. Les infections par des virus, des bactéries et d'autres êtres vivants font partie en quelque sorte des cancers, mais ne sont certainement pas des agents essentiels chez d'autres. Ce ne sont pas évidemment des « causes ». Il faut les évaluer, les comprendre, mais ils ne sont pas les facteurs critiques que nous cherchons.

Ce fait devient de plus en plus clair si nous revenons à nos trois théories de l'origine du cancer. En premier lieu, les restes embryonnaires. Peut-on considérer l'un ou plusieurs de ces facteurs comme d'une importance primordiale pour la mise en évidence et en activité des restes embryonnaires? Ils peuvent agir sans doute en supprimant des

contraintes, cependant, bien qu'il puisse exister une température critique pour le fonctionnement de ces contraintes, il est difficile de voir comment un Cysticerque peut agir de cette façon. Il est aussi difficile d'envisager tous ces facteurs comme importants pour l'orientation graduée du métabolisme des cellules dans une voie déterminée, c'est-à-dire vers la malignité, comme cela est nécessaire pour notre seconde théorie. Mais si nous les considérons comme des agents non-spécifiques, jouant sur quelque mécanisme fondamental pour produire un type particulier d'altération, nous pourrions alors leur reconnaître un rôle causal. Ce mécanisme non-spécifique est, je crois, le processus mitotique lui-même, et l'effet en est une mutation. Je sais bien que l'idée selon laquelle les cancers ont pour origine des mutations est âprement discutée par beaucoup de savants spécialistes du sujet. Je vais, néanmoins, essayer de développer cette thèse dans le chapitre suivant.

LES ORIGINES DU CANCER

III. MUTATIONS

Nous avons déjà vu qu'une grande variété d'agents : les facteurs héréditaires, soit sous forme de gènes spécifiques, soit par des déséquilibres génétiques, des irritations chimiques ou physiques, des déséquilibres hormonaux, des virus, des bactéries et d'autres organismes peuvent, dans des cas choisis, être invoqués comme agents « carcinogénétiques ». Qu'y a-t-il de commun, chez ces agents divers ? Comment peuvent-ils fonctionner pour produire la maladie spécifique à laquelle nous attachons le nom de « cancer » ?

A ce point nous devons revenir au rôle des cultures de tissus dans les recherches sur le cancer.

Les premières techniques de culture des tissus, développées par CARREL, FISCHER, PARKER et d'autres de l'école de CARREL, consistaient uniquement dans la culture de cellules sur des milieux caractérisés par l'addition de plasma, de sérum et d'extrait embryonnaire, ces matériaux étant toujours d'origine homologue, c'est-à-dire de la même espèce animale que la culture elle-même. Ces milieux avaient une valeur nutritive élevée et produisaient une croissance rapide, croissance maintenue par des renouvellements fréquents du milieu et par la transplantation, toujours pratiquée aussitôt qu'une culture avait dépassé l'optimum de prolifération. PARKER, il est vrai, a fait quelques expériences avec des cultures sur sérum seul, sans extrait d'embryon, cultures qui ont montré une croissance lente, et l'école de FELL à Cambridge maintenait des cultures d'organes sur des milieux à valeur nutritive diminuée, pour encourager la différenciation et la morphogenèse. Mais ces études elles aussi étaient presque sans exception pratiquées sur des milieux homologues. Dans ces conditions les cultures étaient remarquablement stables. On a donc pris cette stabilité comme caractère fondamental des cellules.

Si, alors, par intention ou par accident nous passons à côté de ces conditions « idéales », et surtout si nous substituons aux milieux habituels des sérums et des jus d'embryon hétérologues, c'est-à-dire prélevés sur des espèces différentes, cette stabilité apparente peut disparaître. Les cellules deviennent souvent polymorphes et de ces races polymorphes nous pouvons sélectionner des souches diverses dont quelques-unes res-

semblent, par leur comportement et leur croissance, aux souches que nous isolons directement des cancers.

Au début, on n'a pas reconnu dans ces observations un caractère de généralité. En 1939, Wilton EARLE, à l'Institut du Cancer aux Etats-Unis, a fait des études en vue de déterminer les conditions précises nécessaires pour produire des cellules cancéreuses à partir de cultures de tissus traitées avec le méthylcholanthrène. Il proposait de traiter une souche normale de fibroblastes, isolée d'une souris saine, avec des concentrations variées de ce produit, pendant des périodes variées, et puis, après enlèvement de la substance irritante, de greffer les cultures traitées sur des souris saines, afin de déterminer l'incidence de la malignité produite par le traitement.

Les embryons de souris sont plus fibreux et moins faciles à broyer que les embryons de poulet; le sérum de souris est difficile à obtenir en quantité, et les caillots de plasma de souris sont plus opaques que ceux du poulet. Cependant EARLE voulut travailler avec des cultures de mammifère, en raison de sa ressemblance avec l'homme. Il était dans ce cas difficile de travailler avec des matériaux homologues. Il accepta un compromis en employant des milieux nutritifs hétérogènes, faits de sérum, de plasma et de jus d'embryon de poulet, milieux dans lesquels les cellules de poulet avaient montré une grande stabilité. Les études furent envisagées et exécutées avec les plus grands soins. Néanmoins EARLE a trouvé, provenant non seulement des souches traitées au méthylcholanthrène mais aussi des souches-témoins non traitées, des cellules cancéreuses, c'est-à-dire des souches qui produisaient des cancers par greffage sur des souris saines. L'incidence de souches tumorales était inférieure à partir des souches témoins, mais elle n'était pas nulle comme on s'y attendait. EARLE pensa y voir la conséquence d'une faute dans ses méthodes, par exemple que ses témoins étaient peut-être contaminés avec des traces de méthylcholanthrène. Il recommença ses expériences avec plus de précautions encore.

Mais, quelques années plus tard, FIROR et GEY, travaillant cette fois avec des cellules de rat et toujours avec des milieux hétérogènes, trouvèrent aussi des races de cellules malignes issues des souches normales. Ils n'avaient pas utilisé de produits chimiques carcinogènes. Dans ces études, on ne décelait aucune source de contamination. On considérait ces souches cancéreuses comme des curiosités fortuites et sans explication. Puis, plus tard encore HULL, PARKER et d'autres ont, eux aussi, trouvé des résultats semblables, tellement souvent qu'il n'était plus possible de les attribuer à des accidents. On a même émis l'idée

qu'aucune souche de cellules ne peut rester normale sur des milieux hétérogènes, que toutes les souches ainsi établies sont nécessairement cancéreuses. Par une autre façon de voir, quelques-uns ont suggéré que seules les cellules cancéreuses peuvent continuer à se multiplier en culture de tissus et que les cultures de tissus normaux n'ont jamais existé!

PUCK et ses collaborateurs démontrèrent que, si une suspension diluée de cellules de n'importe quelle origine est distribuée sur la surface d'une culture nourricière inactivée par des rayons X, les colonies de cellules dérivées à partir de ces cellules sont d'une variabilité extrême et que quelques souches ainsi isolées sont cancéreuses dès le commencement. Cela suggère que les cellules prises de l'animal sont elles-mêmes polymorphes et cela étaye la théorie des « restes embryonnaires ».

Mais cette variabilité est quelque chose de plus qu'un polymorphisme des tissus dans le corps. En 1948, SANFORD, travaillant avec EARLE et employant sa souche maligne de fibroblastes de souris, le « Strain-L », réussit à introduire une cellule unique dans un tube capillaire et, en plaçant le tube sur un milieu judicieusement conditionné, la fit croître pour donner naissance à une nouvelle race de cellules. C'est la souche qu'on appelle « Clone 929 ». Ayant son origine dans une seule cellule, elle doit comprendre des cellules d'une génétique et d'une physiologie uniforme. Néanmoins, bien que dérivée d'une race très maligne, ce « clone » ne montrait qu'une malignité faible. Il ne produisait des tumeurs sur des animaux sains qu'après un traitement préalable de l'hôte soit par de la cortisone, soit par irradiation totale du corps aux rayons X. La signification de ces quelques réussites dans des conditions évidemment très artificielles est certainement douteuse. Le « clone 929 » avait perdu la malignité de la souche « L » d'origine.

Néanmoins cela peut être le résultat de la sélection d'une cellule normale, portée depuis des générations dans la souche mixte et de caractère surtout mais pas complètement cancéreux. SANFORD poussa ses recherches plus loin en établissant une série de races secondaires à partir de ce « clone ». Au début, le « clone 929 » était franchement polymorphe avec beaucoup de cellules géantes. En sélectionnant des souches d'après des différences d'apparence, SANFORD a pu établir plusieurs races de morphologie distincte. Ces souches étaient contrôlées de façon régulière pour éprouver leur malignité. Des différences étaient évidentes dès le commencement et finalement SANFORD a établi deux races, l'une produisant des cancers dans plus de 90 % des essais, l'autre dans moins de 5 %.

SANFORD a alors répété le processus de sélection des races divergentes à partir de la race « hautement maligne ». On a encore pu établir des races d'une malignité largement variée. Il est alors évident que l'altération fondamentale dans la tenue des cellules auxquelles nous donnons

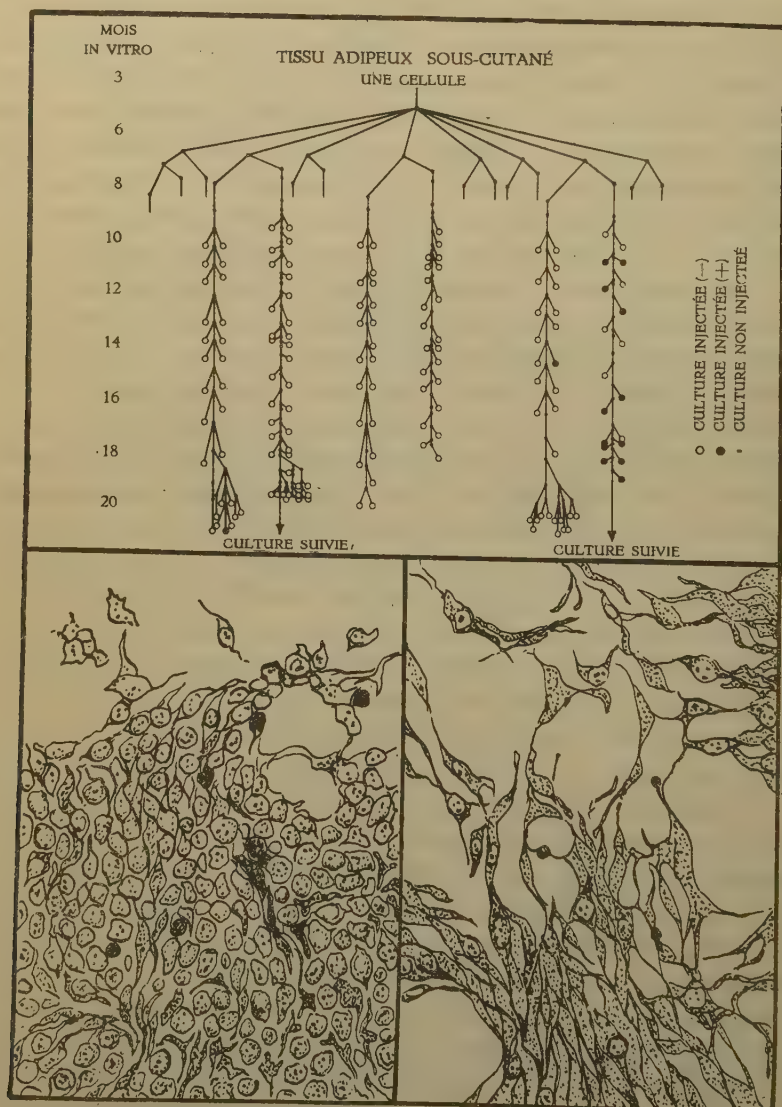


Fig. 23. — Histoire d'une race de cellules de souris dérivée d'une cellule unique. Il en est sorti deux races distinctes, celle à gauche, de caractère sain, celle à droite de caractère nettement cancéreux; d'après SANFORD et EARLE.

le nom de « cancer » est survenue au hasard et plusieurs fois dans cette race de cellules sortie d'une seule cellule et douée, par conséquent, d'une hérédité théoriquement uniforme, dans des conditions extérieures supposées identiques, et que ces cellules sont également revenues à plusieurs reprises à leur état pré-cancéreux.

D'autres expériences ont montré que ces souches malignes étaient caractérisées, comme WARBURG l'avait pensé, par une capacité très élevée de la respiration anaérobie, caractère qui disparaît dans les souches non malignes, dérivées d'elles. Toutes ces races se multipliaient à des vitesses égales.

Qu'est-il survenu ici?

Je pense que nous ne sommes qu'au commencement du développement des méthodes susceptibles d'approfondir cette question. Nous ne pouvons à présent faire plus que de poser des questions, basées sur quelques faits.

Mais une chose importante découle de ces observations. Ces altérations dans des cellules en culture de tissu se passent dans des conditions qui excluent, dans toute la mesure du possible, la participation de tout facteur extérieur à la cellule : des déséquilibres hormonaux, les irritations chroniques, la carcinogenèse chimique, l'hérédité spéciale (sauf comme expression d'une instabilité cellulaire génétique), les virus. La cancérisation que nous observons ici est une cancérisation cellulaire et, pour autant qu'on puisse le voir, spontanée. A mesure que ces facteurs cellulaires acquièrent de l'importance dans l'origine du cancer, les autres facteurs trouvent leur importance diminuée dans une même mesure.

Mais si nous ne pouvons pas encore expliquer ces altérations chez les cellules animales, nous avons chez les plantes, une base plus solide pour la discussion de ces problèmes.

A l'époque où EARLE commençait ses recherches sur les cellules de souris, en 1937, Roger GAUTHERET à la Sorbonne, le Professeur NOBÉCOURT à Grenoble et moi-même travaillions indépendamment sur les problèmes de la culture des cellules végétales. M. NOBÉCOURT et moi avons abordé le problème du point de vue des tumeurs végétales tandis que M. GAUTHERET s'intéressait aux problèmes de la croissance en général. Evidemment nous avons choisi des matériels différents pour nos recherches.

J'avais déjà réalisé, dès 1931 un milieu nutritif et une série de méthodes, employant comme matériel les racines normales de tomate. Ma souche de racines, isolée en mars 1933, est en culture continue depuis 27 années et est maintenant la plus vieille de toutes les cultures de tissus qui existent aujourd'hui, bien que la souche de fibroblastes

isolée par CARREL en 1911, portée en Allemagne par FISCHER en 1928 et perdue finalement peu après la dernière guerre, en 1948, était, à la fin, un peu plus âgée. J'appliquai les méthodes développées pour les racines à l'étude d'une tumeur végétale, partant des tissus procambiaux prélevés sur des tiges d'un tabac hybride *Nicotiana glauca* $\times$ *N. Langsdorffii* déjà mentionné. Les tissus de cette plante ont bien poussé sur le milieu pour racines de tomate et en 1939 j'ai publié le premier rapport d'une culture de tissus tumoraux végétaux. Mais à la même époque, j'ai démontré que les tissus normaux, non-tumoraux des deux espèces de *Nicotiana* parents ne pouvaient pas être cultivés sur le même milieu.

Au même moment, GAUTHERET et NOBÉCOURT étaient en train de faire des études indépendantes sur les tissus de Carotte. Presque simultanément avec la publication de mon article sur les tissus tumoraux de *Nicotiana*, ces deux savants français ont décrit l'établissement de souches de tissus normaux de Carotte. Les milieux qu'ils ont employés différaient entre eux et du mien, surtout par leur contenu en acide indol-acétique, que je n'avais pas employé. Leurs tissus normaux ne pouvaient pas se multiplier sans cette hormone, tandis que mes tissus tumoraux ne l'exigeaient pas. Cette différence entre des tissus normaux et tumoraux s'est montrée plus tard comme générale.

Plus tard, GAUTHERET remarqua que quelquefois il se produisait dans ses cultures des souches divergentes d'apparence différente, qui pouvaient être sélectionnées et propagées de la même façon que SANFORD, quatorze ans plus tard le fera avec des cellules animales. Mises sur des milieux variés, certaines de ces cultures isolées pouvaient se multiplier sans acide indol-acétique. GAUTHERET appela ce phénomène l'« accoutumance » à l'absence d'auxine. Plus tard il a changé le nom du phénomène en l'appelant « anergie ». Il a reconnu que, étudiée en considérant mes travaux, cette altération peut représenter une nouvelle approche des caractéristiques de la culture cancéreuse. Plus tard, avec KULESCHA, il démontra que ces cellules produisaient, en fait, des quantités importantes d'auxine. Le même type d'altération fut reconnu plus tard chez *Scorzonera* par GAUTHERET, chez *Parthenocissus* et *Vitis* par MOREL et d'autres. On a démontré que de semblables altérations de métabolisme peuvent affecter les besoins en biotine, en acide pantothénique et en autres vitamines. Il semble que ces altérations subites dans les exigences et les capacités métaboliques soient assez communes en culture de tissus végétaux.

Nous avons donc ici une modification qui accompagne l'apparition d'un état malin, semblable à ceux observés par SANFORD, EARLE, GEY,

PARKER et d'autres chez des tissus animaux. Dans ce cas, le changement malin est associé d'une façon incontestable à une altération métabolique bien définie, une altération dans la capacité de produire et de prospérer en l'absence de sources externes d'une substance unique, l'acide indol-acétique.

Toute cellule végétale a besoin d'une auxine quelconque pour pouvoir croître. Ces auxines sont normalement produites uniquement dans des régions spécialisées de la plante, de telle sorte que les gradients dans l'approvisionnement d'auxine deviennent des agents puissants déterminant les relations morphogénétiques. Ce sont des facteurs qui empêchent le développement anarchique des cellules. Chaque cellule qui peut échapper à ces contraintes acquiert immédiatement une des plus importantes caractéristiques de la malignité.

Un nouveau pas en avant dans cette question fut accompli par STEEVES, SUSSEX et PARTANEN, ayant travaillé en partie à Versailles avec MOREL. Ces savants ont isolé une souche de cellules de la génération haploïde de la fougère *Pteridium aquilinum*. Cette souche était très polymorphe et un examen cytologique révéla une série d'altérations dans les nombres des chromosomes, avec un assez grand nombre de cellules tétraploïdes et des nombres moindres, mais significatifs, de triploïdes et aneuploïdes. Ces nombres s'accordaient avec une série parallèle des niveaux d'acide désoxyribonucléique, déterminés par photométrie.

Il existe un parallélisme assez frappant avec ceci dans les travaux de KLEIN et d'autres sur les tumeurs dites « ascites » des animaux. Quelques tumeurs réduites par broyage ou par digestion légère à la trypsine à une suspension de cellules, puis injectées dans la cavité intrapéritonéale d'un animal, au lieu de produire des nodules solides, attachés et pourvus de leur propre vascularisation, comme cela se fait après un greffage courant, se mettent à croître librement et forment une suspension de cellules actives dans l'exudat péritonéal. Ce sont des cancers semi-liquides. On peut les transplanter en série au moyen du liquide prélevé à un animal et injecté à un autre. La capacité des cellules libres de se multiplier en suspension semble être caractéristique de quelques tumeurs dès leur début, mais cette même caractéristique peut être acquise peu à peu par d'autres tumeurs. Et, comme chez les fougères de PARTANEN, les modifications dans la capacité de se multiplier en suspension s'accordent avec des niveaux de polyplôidie et d'aneuplôidie, d'après les travaux de HAUSCHKA et LEVAN.

Venons-en maintenant, pour nos comparaisons, à une autre sorte de cellule. La race « sauvage » de la moisissure commune *Neurospora crassa*

a des besoins nutritifs bien définis et assez simples. En culture, elle produit des races variées, à une allure normalement assez basse mais qui peut être largement augmentée par traitement aux rayons X. Si on cultive ces moisissures sur un ensemble de milieux variés, on verra que ces races présentent des modifications en besoins nutritifs, notamment en ce qui concerne les acides aminés et les vitamines. Quelques altérations constituent des déroutements dans les voies métaboliques préférées, si bien qu'il faut entrer dans le cycle métabolique à des niveaux nouveaux de complexité. Et, chez *Neurospora* nous pouvons heureusement rattacher ces changements à des événements spécifiques, des mutations et des translocations.

Ce sont exactement les mêmes sortes d'altérations métaboliques observées par GAUTHERET dans ses cultures de tissus de carotte. Chez *Pteridium* et les tumeurs ascites de la souris et de l'homme, on peut rattacher ces altérations à des permutations du nombre des chromosomes et des niveaux de l'acide ribonucléique, sans pouvoir démontrer qu'elles résultent de mutations génétiques. Chez la carotte, la vigne, etc. on n'a pas pu encore démontrer une relation avec des altérations chromosomiques. Et chez les cultures de tissus de souris de SANFORD, nous n'avons aucune preuve de leur caractère spécifique. Mais la série : *Neurospora* — *Pteridium* — carotte — souris est suffisamment complète et continue pour justifier l'hypothèse que la malignité chez la souris et chez l'homme peuvent bien résulter du même type de mutation génétique, produisant des altérations dans le métabolisme cellulaire.

Je pense que nous avons raison de croire que ces mutations métaboliques sont beaucoup plus fréquentes qu'on ne l'a pensé. Quelles sont les mutations reconnues chez l'homme? Il y en a plusieurs et leur nature est, je crois, significative. En premier lieu il y a la pigmentation, surtout de l'œil, l'albinisme par exemple. Ici nous avons une altération visible, même frappante pour tout le monde. En second rang, il y a des altérations chimiques du sang. L'hémophilie s'exprime d'une façon spectaculaire. Le sang est un liquide qui est soumis à des études quotidiennes et partout, de telle façon que toute modification importante ne peut passer inaperçue. L'anémie qui se manifeste par des globules rouges en faucille en est un exemple. En troisième lieu, il existe des altérations dans la chimie de l'urine, telle que l'alcaptanurémie, qui touche encore un fluide soumis à des examens quotidiens. Partout où nous avons l'occasion d'étudier le corps à fond, nous y trouvons des évidences de mutations.

Toutes ces altérations : l'albinisme, l'hémophilie, l'alcaptanurémie peuvent s'expliquer par des mutations génétiques, c'est-à-dire des mutations qui se sont produites au cours de la formation des cellules sexuées. Mais il existe une autre sorte de mutation, la mutation somatique, qui frappe des cellules diploïdes du corps à n'importe quelle période dans l'ontogenèse et qui détermine ainsi des secteurs somatiques, des chimères, sans implication génétique au sens strict. BARTLETT a présenté de beaux exemples de ces mutations somatiques dans la laine des moutons, où on peut même déterminer à peu près, dans l'ontogenèse de l'individu, le moment où la mutation s'est produite, par l'aire et la distribution des tissus altérés. Des chimères de cette sorte sont communes chez les plantes. HALDANE a pensé que ces chimères ne peuvent être comparées aux cancers parce qu'il n'y a aucune invasion des tissus sains par les cellules modifiées. Pour les plantes, cet argument n'a aucune valeur, vu leur caractère structural; pour les animaux, l'invasion est un développement tardif dans la cancérisation. Je ne suis pas du tout de l'avis de HALDANE sur ce point.

Beaucoup de ces mutations somatiques peuvent nous échapper parce qu'elles se produisent dans des régions du corps que nous n'examinons que rarement ou parce qu'elles sont difficiles à déceler. Par exemple, si une cellule de l'épithélium du poumon telle que celles étudiées par FELL et MELLANBY, est mutée de telle sorte que, à cause d'un pouvoir nouveau de fabriquer la vitamine A, elle n'exige plus une source externe de cette vitamine pour produire des cils normaux, que verrons-nous? Rien du tout, parce que le sang normal contient des quantités suffisantes de ce métabolite. La cellule altérée se conduira exactement comme ses voisines sauf en donnant naissance, par multiplication, à un secteur tissulaire doué lui aussi de cette capacité accrue de synthèse, une capacité qui reste cachée et qu'on ne peut déceler qu'en transportant les cellules en culture de tissu dans des milieux dépourvus de la vitamine. Mais, si une autre cellule pulmonaire subit une mutation lui permettant de produire un enzyme capable de détruire la vitamine A dès qu'elle est absorbée, comme l'a trouvé VAN OVERBEEK chez le « maïs paresseux », nous aurons une cellule dont les besoins en vitamine A seront accrus. Elle perdra ses cils, cessera de fabriquer de la muqueuse, et produira, à la place, de la kératine. La descendance d'une cellule mutée de cette façon, si elle peut se multiplier, constituera, dans le poumon, une plaque cornée qui peut être un centre constant d'irritation.

On a des indices conduisant à penser qu'un processus semblable intervient dans quelques cas de cancer. Quand la souche HeLa des

cellules de carcinoma du col de l'utérus fut isolée par Gey, on essaya d'établir une souche parallèle de cellules normales. On a réussi à établir cette souche, mais elle avait, dès le commencement, une tendance à se différencier et à se kératiniser; finalement elle s'est différenciée au point de perdre complètement la capacité de se multiplier. Après deux années de soins les plus poussés, la souche normale fut perdue, tandis que la souche cancéreuse continuait à se multiplier rapidement et dans une grande variété de milieux. D'après la description du Dr. Gey il semble que la souche normale se soit comportée tout à fait comme une souche carencée en vitamine A. Il est intéressant de se demander comment cette souche aurait réagi en présence d'un milieu additionné d'un excès de vitamine A, expérience que, malheureusement, nous ne pouvons plus faire.

Inversement, si une cellule subit une mutation vers un besoin absolu pour l'acide para-amino-benzoïque, dans un corps où la lymphe et le sang n'en contiennent pas, cette cellule mourra aussitôt et sera absorbée sans laisser aucune trace de l'événement.

Ceci nous amène à un autre aspect du problème. Les systèmes homéostatiques normaux du corps, comme les milieux de culture à base de sérum et de jus d'embryon homologues, de CARREL et de PARKER, sont des tampons puissants. Le corps est caractérisé par une structure assez stable. La multiplication cellulaire est d'allure lente, juste suffisante pour compenser la mort des cellules usées. Les muscles et les nerfs ne prolifèrent pas au stade de maturité. Les os et les cartilages sont remplacés lentement, les cellules du sang, les endothéliums et les muqueuses prolifèrent plus rapidement, mais à une allure assez stable. L'allure de prolifération dans la peau et dans la muqueuse intestinale est encore plus élevée. Mais la vitesse est bien stabilisée. On peut prévoir le nombre des mitoses pour une partie du corps selon l'âge et la condition particulière de la physiologie de chaque individu. Alors, les mutations peuvent se manifester et leurs résultats peuvent être répandus uniquement au moyen des mitoses. Tout ce qui peut augmenter l'allure des mitoses dans quelque partie du corps augmentera automatiquement la probabilité des mutations et en même temps augmentera la possibilité qu'une cellule mutée puisse entrer en compétition avec succès avec les autres cellules, pour vivre et pour se multiplier.

C'est exactement ce que fait n'importe quelle irritation. Une blessure est suivie par l'influx de substances mitogènes à l'endroit endommagé, et les cellules voisines, les tissus conjonctifs et les épithéliums, prolifèrent pour combler les vides laissés par la destruction tissulaire.

Dans la cicatrisation normale, cette prolifération continue seulement jusqu'à la fermeture de la plaie. Les mécanismes homéostatiques arrêtent les mitoses quand elles ne sont plus nécessaires pour restaurer l'équilibre normal. Mais si, pour une raison quelconque, la fermeture n'est pas complète et l'équilibre n'est pas restauré, soit par suite d'une destruction continue de cellules nouvelles, soit parce que les tissus nouveaux ne sont pas suffisamment vascularisés, soit parce que l'agent produisant la blessure ne peut pas être enlevé, la prolifération continuera. Un corps étranger tel qu'une larve de *Taenia* ou un morceau de verre ou un nodule tuberculeux dormant peuvent être emmurés de façon à ne plus irriter les tissus environnants. Mais une irritation persistante tiendra les tissus dans une condition de prolifération chronique, dans un état favorable à la production de mutations métaboliques. Et une cellule qui diffère de ses voisines même très peu, en raison d'un déséquilibre génétique, peut bien servir de centre d'irritation chronique. Ceci semble être le cas des tumeurs à *Cysticerque* du foie.

Quand surviennent de telles mutations? Quelques-unes ne seront pas viables et disparaîtront. D'autres, bien que viables, ne seront pas assez écartées de la tenue normale pour se montrer nuisibles. Mais d'autres, libérées des contraintes normales, continueront à se multiplier et à envahir les tissus normaux. Elles seront toujours des cellules de l'hôte et ne provoqueront aucune réaction antigénique. Le corps ne les reconnaîtra pas comme des parasites, pas même des corps étrangers, jusqu'au moment où ils entravent des fonctions vitales. Elles seront capables de s'installer et finalement de détruire le tout.

Et quelles sont les conditions qui peuvent favoriser de telles altérations? Elles peuvent arriver n'importe où et à n'importe quel moment, là où il y a un grand nombre de mitoses. Les mitoses sont plus nombreuses dans l'embryon, ainsi les cancers peuvent commencer à tout moment, mais le corps *in utero* est particulièrement bien protégé par les mécanismes de régulation. Plus longtemps le corps aura survécu, plus grand sera le nombre total des mitoses capables d'être égarées. On peut donc prédire que les défauts s'accumuleront avec l'âge et qu'ils seront plus évidents dans la vieillesse. Nous trouvons ceci chez le cancer.

Nous pourrions prédire également que ces altérations seront plus fréquentes dans les parties du corps qui continuent à proliférer le plus activement, c'est-à-dire où le remplacement est le plus actif. Les cancers des nerfs et des muscles doivent être plus fréquents chez les embryons, rares chez les adultes. Ceci est vrai également. Chez les adultes, les cancers doivent être plus fréquents dans les tissus qui se renouvellent :

la peau, la muqueuse de l'intestin, l'estomac et l'utérus. Ils doivent être fréquents dans les organes tels que le foie, le poumon, la vessie, la bouche et le col de l'utérus qui sont soumis à des irritations et des desquamations. Ceci est encore vrai.

Un cas peut être significatif. Nous pensons que la croissance des tissus est plus rapide chez les enfants que chez les adultes. La peau ne fait pas exception. Si ceci est exact, pourquoi la peau des vieillards devient-elle lâche et ridée? Un chercheur américain a commencé, il y a quelques années, des études sur la peau humaine à tous les âges et est arrivé à des conclusions surprenantes. Il a trouvé que l'allure des mitoses par unité de surface s'accroît régulièrement de l'enfance à la vieillesse. La peau à 80 ans se remplace *plus* rapidement qu'à 8 ans. La peau ridée de la vieillesse résulte de l'incapacité des parties différentes de la peau à maintenir leurs positions et leurs relations relatives. La peau vieille se renouvelle plus vite que les tissus voisins. Ainsi la possibilité de mitoses vers un métabolisme altéré est plus grande dans la peau des personnes âgées que dans l'enfance, non seulement en raison des chances accumulées par le temps mais aussi par suite de l'allure croissante à laquelle ces événements surviennent. On ne doit pas s'étonner que le cancer de la peau soit une maladie de la vieillesse!

Les cultures de tissus nous donnent aussi quelques clartés sur ces questions. Les travaux d'EARLE sur le mésenchyme de souris avaient pour but l'étude des effets de doses variées et de différentes périodes de contact du méthylcholanthrène avec les cellules exposées *in vitro*. Comme nous l'avons déjà vu, EARLE trouvait des cellules cancéreuses même dans ses souches témoins. Néanmoins, il a aussi trouvé que le taux d'occurrence de malignité est augmenté avec les doses croissantes du carcinogène et les durées plus prolongées d'exposition. Mais ceci n'était vrai qu'à un certain point. Dans des conditions d'exposition suffisamment prolongées et à des concentrations élevées, il s'est produit des races de cellules qui, bien que viables, étaient tellement affaiblies qu'elles ne pouvaient être maintenues que grâce aux plus grands soins. Ces races affaiblies et anormales ne produisaient pas de tumeurs après injection dans des animaux normaux. Elles étaient incapables d'entrer en compétition avec les tissus normaux de l'hôte. Elles n'étaient pas cancéreuses, ou peut-être mieux vaut-il dire qu'elles étaient tellement super-cancéreuses qu'elles étaient devenues inoffensives.

Nous pourrions peut-être trouver une comparaison instructive entre ce cas et ce que nous trouvons chez quelques maladies à virus. Je

prendrai un exemple parmi les virus des plantes parce que ce sont les maladies que je connais le mieux. Il y a des virus qui ne produisent que des symptômes légers; ce sont en général des maladies qui se répandent partout dans l'hôte pour devenir généralisées et chroniques. Ils permettent une vie ininterrompue, bien que ralentie, de l'hôte. Il y en a d'autres qui sont plus sévères et tuent l'hôte. Ils sont « malins » au sens littéral. Mais il existe un troisième groupe de virus qui produisent des symptômes d'une gravité extrême. Ces virus tuent très vite les cellules frappées. Ils produisent des lésions locales nécrosées et les virus qui produisent les lésions nécrosées ne deviennent pas, en général, généralisés et chroniques. Ils ne tuent pas l'hôte, ne gênent même pas sérieusement sa vie comme organisme, puisque les cellules frappées sont elles-mêmes détruites avant que le virus puisse pénétrer dans les cellules voisines. Ces maladies se limitent elles-mêmes et sont ainsi moins à craindre que des maladies de caractère moins sévère. Il est probable qu'il existe chez l'homme et chez les animaux toute une série de cellules modifiées dans la direction cancéreuse. Quelques-unes seront inoffensives parce qu'elles ne provoquent aucun dérangement. D'autres seront également inoffensives pour des raisons exactement opposées, parce qu'elles sont altérées au point de ne plus pouvoir vivre. Celles qui seront dangereuses seront celles qui ont subi une altération insuffisante pour détruire leur viabilité mais également insuffisante pour provoquer une réaction protectrice dans les tissus environnants. Ce seront celles-ci qui se multiplieront pour envahir, ravager et détruire.

Dès lors, si les cellules cancéreuses sont celles qui, dans les processus normaux de l'organisme, ont subi des mutations vers un métabolisme nouveau, que pourrions-nous espérer pour la prévention, le traitement et la guérison du cancer?

Evidemment, une fois établie l'excroissance massive, le seul traitement sera l'excision, par intervention chirurgicale. On y trouve aussi une certaine base logique pour nos essais de traiter ces excroissances par des agents à effets différenciés, comme les radiations de haute énergie et certains produits chimiothérapiques. Mais ce qui a été dit ici nous avertit que nous ne devons pas trop attendre de ces traitements. Si les cellules cancéreuses sont, en vérité, des cellules mutées, nous pouvons imaginer qu'elles seront d'une variabilité extrême dans leurs réponses aux agents chimiques ou physiques. Nous ne devons pas nous étonner de l'inconsistance de nos résultats. Je pense aussi qu'il y a ici une indication en faveur des traitements hormonaux appliqués à certains cancers. Il semble probable que les déséquilibres hormonaux ne sont

pas eux-mêmes les *causes* de ces mutations mais plutôt qu'ils fournissent le milieu dans lequel des cellules mutées dans une direction particulière trouvent les conditions favorables pour survivre et se multiplier. Qu'on enlève ces conditions en changeant le milieu interne et ces cellules seront affamées ou au moins auront leur virulence diminuée. Ceci aussi nous suggère quelques possibilités de prévention et de contrôle; si nous pouvons déterminer quel est le déséquilibre intervenu dans un cancer particulier, nous pourrions trouver un traitement rationnel pour ce type de cancer. Il est peu probable que nous trouvions un traitement unique pour tous ces cancers, pas plus qu'on ne peut traiter toutes les allergies d'une seule façon, mais des traitements spécialisés peuvent être efficaces. Et nous pouvons espérer pouvoir découvrir dans quelles directions ces mutations se dirigent le plus souvent, afin de les éviter.

Je ne crois pas que, dans cette voie, nous trouverons beaucoup d'espoir pour la prévention complète du cancer, ni pour une guérison universelle. Si j'ai raison, nous connaissons toujours le cancer, et il sera souvent violent et destructif. Mais nous pouvons espérer mitiger ses effets, nous pourrions trouver les moyens de mieux vivre avec la maladie. Mais il faut répéter qu'aucune de ces améliorations ne viendra avant que nous comprenions mieux et beaucoup plus qu'aujourd'hui le métabolisme et la nutrition des cellules.

LES CULTURES DE TISSUS DANS LA DIAGNOSE ET LE TRAITEMENT DU CANCER

Nous avons déjà vu comment les cultures de tissus ont contribué à notre connaissance de la nature du cancer et à l'établissement d'une base thorique pour le traitement de la maladie. Tout ceci est, néanmoins plutôt spéculatif, assez éloigné de la pratique. Cette méthode peut-elle nous apporter des contributions plus directes pour le diagnostic et le traitement? C'est très possible, bien que, jusqu'à présent, elle ait connu peu d'applications pratiques.

Prenons tout d'abord la question du diagnostic. Je ne connais qu'un cas où on a employé la culture de tissus comme méthode de préférence dans la diagnose du cancer.

Ce que nous désignons sous le nom de « nerfs » est en réalité complexe. Il y a un cordon central, qui peut être une formation cellulaire unique (pas une cellule complète), l'axone, mais sera le plus souvent un fascicule contenant parfois des centaines de ces fibrilles; ce sont les extensions fonctionnelles très minces d'un nombre égal de neurones, les cellules étant situées dans le tronc nerveux central, surtout dans la moëlle épinière, le cerveau, ou les centres ganglionnaires. Ce faisceau de fibres est entouré par une gaine, constituée des cellules de SCHWANN et de leurs produits, la gaine de myéline; le tout est entouré d'une enveloppe extérieure, le neurolemma, d'origine conjonctive. Il existe un certain nombre de tumeurs malignes bien connues, qui frappent ces parties complexes et qui donnent ainsi naissance à des épaissements des nerfs. Ces excroissances englobent toutes les cellules : l'axone, les cellules de SCHWANN et le neurolemma. Il est souvent très difficile de déterminer, au moyen des sections histologiques, laquelle de ces cellules est à l'origine de la maladie et lesquelles sont secondairement troublées par les pressions qui résultent de la croissance exubérante générale. Dans ces cas, on a trouvé utile d'enlever par biopsie un morceau de tumeur qui est mis en culture de tissus. Les cellules prélevées, libérées des contraintes anatomiques du corps, reviennent assez rapidement à leur état caractéristique, soit normal, soit cancéreux, et on peut ainsi identifier celles qui sont atteintes au premier plan. On peut ainsi arriver à une diagnose

de tumeur de cellule de SCHWANN, de tumeur du neurolemma, ou de tumeur de l'axone et du neurone propre. Ces expériences peuvent nous aider à décider de la malignité ou de la bénignité de l'excroissance, et peuvent rendre possible un diagnostic valable et un traitement approprié. La culture des tissus, dans les mains de MURRAY et STOUT, est devenue une méthode de choix pour la diagnose de ces neuromas obscurs.

Il est un autre exemple, pas toujours lié au cancer, dans lequel la culture de tissus a joué un rôle quelquefois important. La glande parathyroïde contrôle le niveau du calcium mis à la disposition du corps. Une carence parathyroïdienne donne un niveau trop bas de calcium dans le sang; il en résulte un état tétanique. Une parathyroïde suractive, par contre, et surtout les tumeurs parathyroïdiennes font apparaître des os mous, spongieux, un taux élevé de calcium libre dans le sang et le dépôt de calcium dans les muscles et d'autres endroits anormaux. Le mécanisme exact de la destruction des os resta longtemps obscur; on supposait qu'elle résultait d'altérations des enzymes du sang. La relation entre les glandes parathyroïdes et les troubles osseux serait, d'après cette théorie, indirecte et généralisée. GAILLARD, d'ailleurs, a montré que ceci n'est pas vrai. Les tissus parathyroïdiens peuvent être cultivés *in vitro* d'après les méthodes développées par FELL. Si on met une culture de parathyroïde sur un os, par exemple l'os frontal, soit en culture soit directement sur un embryon de poulet dans l'œuf, les grandes cellules parathyroïdiennes attaquent l'os directement, le rongent. Les prises de vue cinématographiques montrent que ces cellules sont vraiment responsables. Le processus de destruction de l'os n'est pas indirect, par voie sanguine; c'est une attaque directe d'une cellule contre une autre cellule; les altérations du sang sont d'origine secondaire. Les mécanismes normaux du corps fonctionnent pour maintenir ces cellules séparées; aussitôt que ces barrières tombent, les cellules parathyroïdiennes ont accès aux cellules de l'os et le désastre survient, pour les os et pour l'être malheureux qui trouve son échafaudage fondamental affaibli par l'attaque.

Mais cette question de la fonction parathyroïdienne présente un autre aspect. Quelquefois, ou par raison de maladie directe ou parce que les parathyroïdes ont été enlevées par accident dans l'excision des thyroïdes, la quantité de tissus parathyroïdien en fonction devient trop petite pour maintenir le taux de calcium dans le sang. Ce taux tombe au niveau dangereux et il en résulte un état de nervosité extrême, des convulsions et finalement la mort. On ne peut corriger cet état qu'en injectant constamment de la parathyroïdine. Or, GAILLARD a montré

que les mêmes cultures avec lesquelles il avait démontré la véritable nature de l'ostéoclaste parathyroïdienne, peuvent servir dans la thérapie de l'hypoparathyroïdisme. Si on multiplie ces cultures pour avoir un volume considérable de tissu et si on les implante dans les aisselles des personnes malades de tétanisme parathyroïdien, ces tissus implantés peuvent, dans certains cas, prendre racine pour produire des greffes permanentes et on assiste alors à la guérison complète de la maladie. Jusqu'à présent, on a obtenu cette guérison uniquement avec des malades jeunes, de moins de 25 ans au moment de l'opération. Ces succès, même isolés, sont cependant d'une très grande importance et doivent nous encourager à faire tout effort possible pour perfectionner cette méthode et élargir son champ d'application. Elle a été employée avec succès dans le traitement de déficience ovarienne. Elle doit être appliquée aussi à d'autres glandes.

Ces méthodes de diagnostic n'ont pas, autant que je le sache, trouvé d'application pour les autres sortes de tumeurs. Peut-être ne pourront-elles rien apporter aux méthodes plus simples de PAPANICOLAU. Je pense, cependant, qu'avec les progrès dans notre maîtrise des problèmes de nutrition cellulaire et avec l'établissement d'un spectre des exigences nutritives liées aux types spéciaux et aux niveaux de malignité des tumeurs, il deviendra possible de diagnostiquer les tumeurs et de prédire leur thérapie en mettant des morceaux pris par biopsie sur des milieux variés, exactement comme aujourd'hui nous identifions les bactéries au moyen de milieux sélectionnants. La méthode des plaques imaginée par PUCK fait certes, de la cellule humaine ou animale, quelque chose de beaucoup plus proche des bactéries qu'auparavant, en ce qui concerne leur manipulation, et ouvre la voie à de nouveaux raffinements. Avec le perfectionnement des milieux simples et stables par WAYMOUTH, je pense que nous sommes déjà prêts pour le développement de milieux spécifiques destinés à ces expériences.

GREENE croit, probablement avec raison, que la malignité représente une altération progressive, soit continue, soit discontinue. Dans ses techniques, la capacité, pour un tissu, de croître progressivement dans l'œil du lapin est devenue une mesure utile du niveau des changements qui séparent l'état malin de l'état bénin. Ainsi les tissus humains normaux, sauf les cellules de l'embryon, ne peuvent pas s'établir dans l'œil du lapin, tandis que les tissus malins, c'est-à-dire autonomes, s'établissent facilement, se vascularisent, croissent rapidement et d'une façon continue dans ce milieu étranger.

Donc, l'autonomie est l'état préexigé pour la métastase bien que, la métastase représentant une condition qui dépend aussi des conditions générales, toutes les excroissances autonomes ne vont pas se métastaser; mais il est certain que l'autonomie représente l'étape à partir de laquelle une excroissance devient dangereuse.

Ainsi GREENE donne le pronostic qu'une tumeur deviendra ou ne deviendra pas envahissante, en se basant sur cette considération. Il n'y a pas un grand pas à franchir pour substituer les conditions d'une culture de tissu à celles de l'œil du lapin, et pour prédire que les différences de comportement des cellules en culture doivent permettre un pronostic semblable. Et ceci peut être important. Certainement beaucoup de tumeurs qu'on enlève aujourd'hui pour des raisons préventives sont, en fait, bénignes et du ressort de traitements moins radicaux. Il est probable que la plupart des « guérisons » par chimiothérapie ou autres traitements ne sont, en réalité, que des régressions spontanées d'excroissances au fond bénignes. Toute méthode qui peut diminuer le nombre des opérations inutiles sera importante. Cette façon de voir est à peine abordée aujourd'hui.

Une méthode comparable est, en fait, employée dans l'étude du problème de la malignité chez les plantes. Chez les animaux, les métastases représentent des déplacements de cellules malignes par la circulation du sang et leur établissement dans des endroits nouveaux. Ils dépendent de l'existence d'un système circulatoire. Les plantes ne possèdent pas un tel système. L'eau et les sels minéraux montent dans le xylème, les matières élaborées, les sucres et les acides aminées descendent, à quelque distance du xylème, dans le phloème. Il n'y a pas de connexion ouverte entre eux, les rayons médullaires étant constitués de cellules vivantes et fermées. Le phloème aussi est constitué de tubes non ouverts, et même les vaisseaux ouverts du xylème sont entourés de cellules qui ne peuvent pas entrer, comme unités mobiles, dans leurs cavités. La seule source possible de mouvement de cellules somatiques, chez les plantes, hors les croissances lentes et irrégulières des pseudolaticifères, seront les tyloses qui ferment les vieux vaisseaux. Il est possible, mais peu probable, que des morceaux nucléés des tyloses peuvent devenir libres dans les vaisseaux. Mais ils ne peuvent pas se déplacer au-delà de quelques centimètres. Des métastases, au sens médical, sont tout à fait impossibles chez les plantes. Comment, alors, sera-t-il possible de démontrer qu'une tumeur végétale possède les qualités qui, chez une tumeur animale, la rendent maligne : l'autonomie et la capacité de se métastaser? Nous avons déjà vu autre part que la greffe, qu'on pratique sans grande

difficulté avec les tumeurs animales et végétales, est en réalité une métastase artificielle, et que l'autonomie qu'on démontre en mettant un tissu végétal sur un milieu dépourvu d'auxine est du même ordre que celle qui est démontrée en mettant un tissu animal dans l'œil du lapin.

Il y a deux méthodes par lesquelles, peut-être, on peut aborder la question de la diagnose avec quelque promesse de succès mais qui, autant que je le sache, n'ont pas été développées. LEVI-MONTALCINI, en étudiant le système inducteur responsable de la distribution des nerfs dans le corps, a remarqué que, dans des animaux atteints d'un cancer, les nerfs pénètrent souvent dans la lumière des vaisseaux sanguins pour donner des neuromas quelquefois assez massifs, comme si le sang contenait une substance inductrice. Cette observation a suggéré l'idée de mettre des tissus ganglionnaires soit en culture avec des tissus cancéreux soit sur le sérum d'un animal malade. Dans les deux cas, les cellules nerveuses ont poussé avec une exubérance accentuée par rapport aux témoins, et dans les cultures mises à côté des tissus cancéreux, les nerfs étaient attirés dans leur croissance en direction des tissus malades. Nous avons déjà remarqué la réponse des leucocytes dans des sérums de malades. Il n'est pas invraisemblable qu'on puisse faire une diagnose de malignité ou de bénignité en prenant par biopsie un morceau de tissu d'une masse du caractère douteux, qu'on le mette en culture à côté d'un tissu indicateur sensible, comme ces ganglions nerveux. C'est une expérience qui, autant que je le sache, n'a pas été tentée.

Il y en a une autre. Pendant la dernière décade, on a beaucoup employé les cultures de tissus de l'homme et du singe comme organismes d'essai pour déceler la présence de virus dans des tissus humains et pour séparer et identifier ces virus. Après qu'on les ait employés en premier lieu pour les virus de la poliomyélite, on a bientôt remarqué que les cultures de tissus peuvent avoir une grande utilité pour le diagnostic d'autres virus. Comme prolongement inattendu de ces études, on a découvert toute une série de virus auparavant inconnus. Ce sont les virus dits « orphelins », des « virus en recherche de maladies » comme l'a dit DURAN-REYNALS. Ce sont les virus qu'on ne rattache présentement à aucun état pathologique. La plupart de ceux que l'on connaît déjà sont d'origine orale ou respiratoire, auxquels on a donné le nom de virus ECHO, mais il n'y a aucune raison de douter de leur existence partout dans le corps. En fait, on a souvent trouvé plusieurs de ces « infections silencieuses » dans le même individu. Ces découvertes des virus silencieux a donné un nouvel essor à l'idée que tout cancer est le résultat du réveil d'un tel virus, idée facile mais sans base réelle.

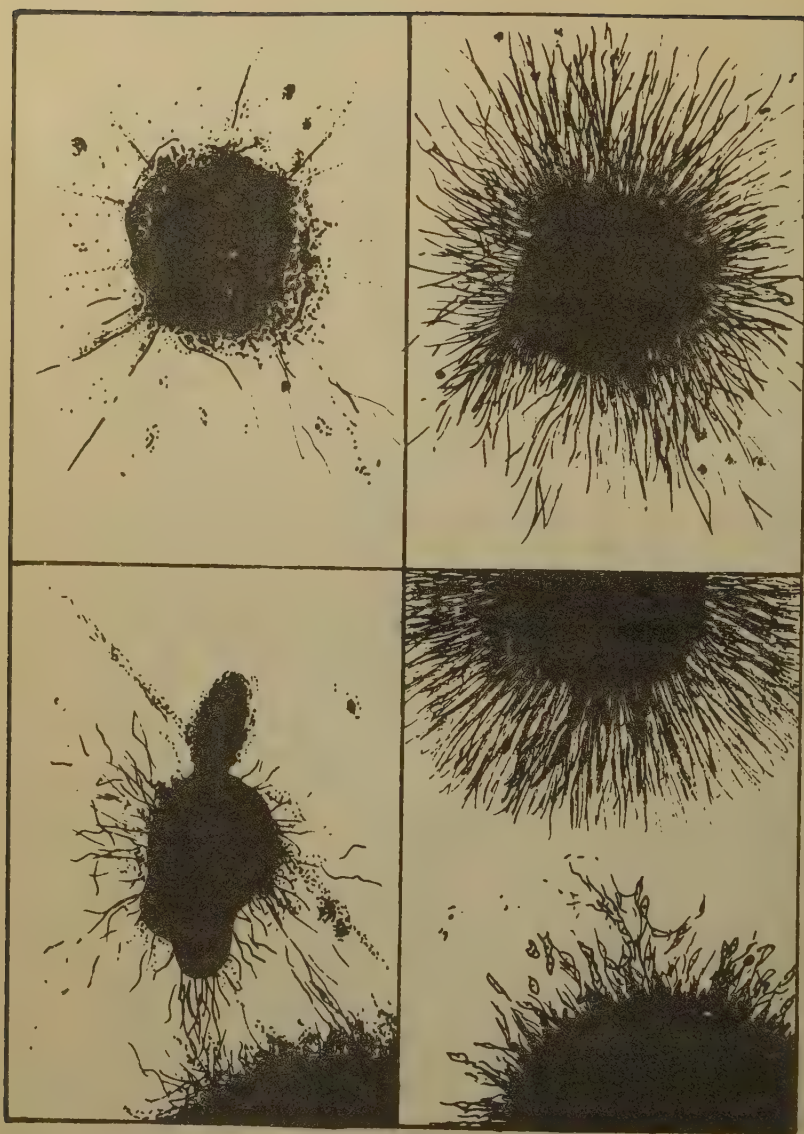


Fig. 24. — Influence de tissus sarcomateux sur les tissus sains voisins. En haut à gauche : culture de ganglion spinal de poulet dans un milieu préparé à partir de sérum d'une volaille saine; à droite : le même dans un milieu additionné de sérum d'une souris atteinte du sarcome 180. En bas à gauche : ganglion spinal de poulet cultivé en présence d'un morceau de tissu de souris saine (coin du bas); à droite : id. mais le fragment du bas est du tissu de sarcome 180 de souris; d'après LEVI-MONTALCINI.

Mais nous avons déjà discuté ailleurs combien il est difficile d'apporter la preuve qu'il existe des cancers à virus chez l'homme, en raison de son inaptitude pour les expériences nécessaires. Nous avons montré que, au moins dans le cas du virus de Rous, le sérum des animaux infectés produit une pathologie caractéristique chez les cellules qui y sont cultivées. Il me semble qu'il y a ici un moyen, encore peu développé, d'employer des cultures de cellules humaines pour étudier des parties de tissus suspects. Que produirait, par exemple, dans une culture de cellules HeLa, l'inoculation de biopsies prises sur des taches positives et négatives au test de PAPANICOLAU ? Nous savons que les cultures des cellules de la maladie pseudo-leucémique d'HODGKINS présentent une croissance qui suggère l'inflammation, c'est-à-dire l'infection. Peut-on transmettre ce comportement aux cultures de tissus prises sur une autre personne saine ? Peut-on établir la distinction entre d'autres conditions inflammatoires qui semble être stériles et des maladies malignes, en cultivant des tissus de chaque malade en présence de souches de cellules saines ? Il me semble qu'en ajoutant aux méthodes de dissociation des tissus d'après MOSCONA, les méthodes de diagnostic de SYVERTON nous pourrions peut-être arriver à des résultats importants. Cela n'est qu'une suggestion, mais j'espère que quelqu'un l'essayera.

Cela suffit pour la question du diagnostic. Que peut-on dire du traitement ? Le traitement d'une maladie peut être de plusieurs sortes. Pour le cancer, le traitement le plus efficace est encore l'extirpation complète, soit par chirurgie, soit par irradiation. Les cultures de tissus ne peuvent rien apporter à ce traitement sauf dans l'étude des effets cellulaires et l'estimation des dosages convenables. En deuxième rang, comme traitement après l'extirpation, et, nous l'espérons, pour la remplacer, on recherche des vaccins contre la maladie, recherche infructueuse jusqu'à présent. Les vaccins sont produits en général à partir d'organismes d'une virulence qui a été diminuée par quelque moyen spontané ou artificiel, qui les rendent incapables de produire la maladie complète, tout en gardant leur capacité de provoquer les réponses antagonistes de l'hôte. Les cancers en général ne provoquent aucune réaction antigénique, les cellules cancéreuses se comportent de ce point de vue comme des cellules normales, c'est là une raison évidente de leur action insidieuse. Ce manque de réaction rend peu probable le développement des vaccins si nous ne trouvons pas des procédés encore inconnus pour augmenter les différences antigéniques de ces cellules. En effet on a reconnu qu'il y a des cellules qui, en se multipliant en culture de tissu sur des milieux hétérogènes, perdent leur spécificité pour acquérir une

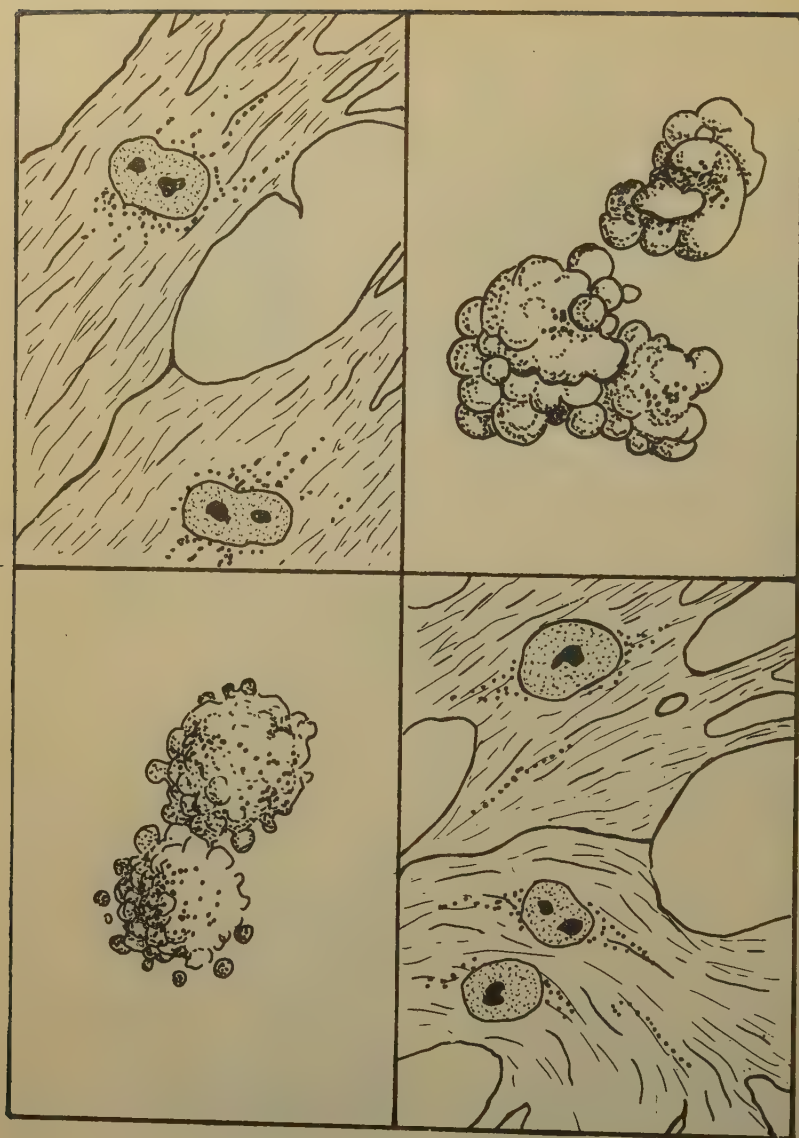


Fig. 25. — Effet du sulfate de strychnine ($3,8 \text{ mg/cm}^3$) sur des fibroblastes de poulet, étudié dans la chambre à perfusion. En haut à gauche : deux cellules normales; à droite, après 6 minutes de perfusion. En bas, à gauche : 25 minutes plus tard, après lavage par milieu normal, le rétablissement commence; à droite, 80 minutes après évacuation de la strychnine, les cellules sont redevenues complètement normales; d'après BUCHSBAUM.

spécificité nouvelle dérivée du milieu. Il semble possible qu'on puisse ainsi donner à une tumeur une action antigénique nouvelle capable de lui permettre de donner naissance à un vaccin effectif. Je ne suis point un immunologiste et j'é mets l'idée pour ce qu'elle peut valoir. A ce moment le problème ne semble pas présenter beaucoup d'espoir.

Mais il y a un aspect du problème de traitement dans lequel les cultures de tissus trouvent couramment une utilité considérable, c'est-à-dire dans la séparation des produits pouvant avoir des valeurs carcinostatiques. C'est un terrain qui jouit aujourd'hui d'une assez grande popularité. Je n'y ai que peu de confiance, mais je ne dois pas le négliger.

Depuis PARACELSE et même longtemps avant lui, on a voulu croire que pour chaque maladie il existe une guérison spécifique, qu'il faut trouver. La « doctrine des signatures » dit que toutes ces guérisons existent chez les plantes, les animaux ou les minéraux et qu'elles sont identifiées par la signature, autrement dit par la morphologie de la maladie qu'elles doivent guérir. Donc, les noix du noyer sont bonnes pour les maladies du cerveau, l'*Hepatica* existe pour les crises du foie, la Mandragore peut servir contre toutes les maladies, et il *doit* exister une guérison spécifique contre le cancer, ou au moins une série de remèdes contre les différentes sortes de cancer. Le fait que l'homme a parcouru la terre depuis plus de 5000 années à la recherche des remèdes spécifiques pour n'en trouver qu'une poignée : le quinquina contre la malaria, la digitale pour les maladies du cœur, la belladone pour les yeux, l'arsenic pour la syphilis, et plus récemment les antibiotiques pour les maladies bactériennes, et qu'aucune de ces guérisons ne porte une signature bien lisible, n'a pas pu décourager ceux de grande foi. Ainsi, ces dernières années ont vu se développer un grand nombre de programmes pour examiner les multiples produits qu'on peut tirer des placards des chimistes — ces placards semblent un peu plus « scientifiques », plus « à la mode » que les jardins des herboristes d'autrefois — pour y trouver une guérison certaine contre le cancer. Une méthode populaire consiste à traiter des cultures de tissus avec des concentrations variées de ces produits. On peut même raffiner la méthode en employant la chambre à perfusion dans laquelle on peut ajouter et enlever le produit en question sans perdre de vue les cellules traitées. On a déjà examiné ainsi des milliers de produits. Chez quelques-uns, on a trouvé une valeur possible, tels les antagonistes de l'acide folique de la série de l'aminoptérine, des produits antimétaboliques comme les moutardes nitrogénées, etc.

J'ai l'impression, cependant, qu'on a porté trop peu d'attention sur la question de ce qu'on peut ou ne peut pas attendre d'épreuves de

cette espèce. Dans les cultures de tissus, nous isolons la cellule de tous les mécanismes tampon du corps, modificateurs et coordinateurs, et nous les remplaçons par un milieu qui réagit directement sur la cellule, sans aucune étape intermédiaire. Tout agent thérapeutique dont les effets dans le corps sont indirects, par suite de l'action intermédiaire des coordinations des systèmes corporels, donnera, dans des essais sur des cellules en culture, des résultats faux. Cela ne veut pas dire qu'ils ne donneront pas d'effets clairs et évidents, mais qu'on ne doit pas attendre que ces effets soient les mêmes ou à peu près que ceux observés *in vivo*. Par exemple, l'iode se trouve concentrée dans la thyroïde et est nécessaire pour la synthèse de la thyroxine, mais il n'y a aucune preuve que les cellules thyroïdiennes ne peuvent pas vivre parfaitement bien dans des concentrations d'iode trop basses pour que la thyroxine soit synthétisée, et il n'y a aucune raison de croire qu'une cellule de muscle réagira à une concentration élevée d'iode de la même façon qu'une cellule thyroïdienne. Les bacilles du colon produisent des substances qui, données aux hommes, semblent avoir un certain effet anticancéreux, mais dans les essais sur des cellules en culture ces produits n'ont montré aucun effet visible. L'effet *in vivo* est indirect; les capillaires deviennent fragiles, des hémorragies se produisent et les tissus des régions douées d'un grand nombre de capillaires se nécrosent. Les tumeurs sont des régions survascularisées ou au moins pourvues de capillaires particulièrement fragiles; les tissus tumoraux chez des animaux traités ont présenté des hémorragies, des nécroses, et il en est survenu une diminution temporaire du volume des tumeurs. Malheureusement les mêmes hémorragies ont frappé aussi d'autres régions hautement vascularisées, surtout les muqueuses intestinales et le cerveau. On a dû abandonner le traitement. Les observations en cultures de tissus n'auraient pas pu nous laisser prévoir ce résultat.

Il me semble que la méthode de séparation des substances carcinostatiques au moyen des cultures de tissu, même basée sur les réponses des cellules cancéreuses, sera valable uniquement pour les produits qu'on peut mettre directement et dans une forme stable sur les cancers *in situ*. Pour cela ces substances doivent pouvoir circuler dans le système sanguin sans y être modifiées. Des substances données *per os* ne doivent subir aucun changement au cours des processus digestifs et ne doivent pas s'attacher aux substances en circulation ou doivent en être facilement séparées. Appliquées par injection intraveineuse, ces dernières exigences seules seront nécessaires. Mais ce sont des exigences difficiles.

Je ne suis pas du tout certain qu'elles ont toujours été considérées assez sérieusement par ceux qui ont envisagé les études courantes de séparation.

Mais si la culture de tissus n'a que peu de chances de devenir une méthode de choix pour l'étude des matières chimiques destinées à la thérapeutique du cancer, au moins par les procédés conventionnels, je pense qu'elle doit être de très grande importance pour les recherches sur le caractère des cellules cancéreuses et leur traitement final. Prenons un exemple.

Comme nous l'avons déjà dit, il y existe aujourd'hui trois théories importantes de l'origine de l'altération des cellules normales en cellules cancéreuses. D'après la première théorie, chaque corps est formé d'une grande variété de cellules, quelques-unes de caractère déjà cancéreux; ces cellules sont tenues en échec par les mécanismes de protection du corps; le cancer ne sera que la faillite de ces mécanismes. C'est la théorie des « restes embryonnaires ». D'après la seconde théorie, toutes les cellules du corps sont, au commencement, normales, mais, comme nous l'avons dit, il survient de temps en temps des modifications subites, des mutations, qui donnent naissance à des cellules anormales, cancéreuses. Quelquefois ces cellules sont maîtrisées par les mécanismes tamponnants du corps, quelquefois non. Ce qui est important ici, c'est qu'on doit les considérer comme le résultat d'événements soudains, imprévisibles. D'après la troisième théorie, comme pour la seconde, toutes les cellules sont au commencement normales, cependant des déséquilibres corporels, des irritations etc. produisent dans certaines cellules des désorientations des processus enzymatiques par une sorte d'adaptation. Les méthodes histologiques et chimiques d'aujourd'hui ne nous permettent pas d'évaluer l'importance relative de ces trois théories, ne nous permettent pas d'en rejeter une ou deux, ni d'élaborer d'autres hypothèses. Les cultures des tissus, proprement employées, doivent nous donner réponse à ces questions. Si nous pouvons mettre les cellules en plaques, comme il est déjà possible de le faire par une combinaison des méthodes de digestion partielle d'après ROUS-JONES-MOSCONA et la méthode de plaque de PUCK, et si par après, nous suivons ces colonies par l'isolement d'une série considérable des souches parallèles de cellules, nous devons arriver à une réponse. Si les cellules tumorales sont présentes dans tous les tissus, il doit résulter d'un tel procédé l'isolement, dès le début, d'un nombre restreint mais statistiquement valable de souches cancéreuses qui le restent et sans altération. Par conséquent, nous ne devons pas séparer de souches normales de nos souches tumorales ni de souches tumorales de nos souches normales. Nous avons déjà vu, dans les travaux de SANFORD,

des preuves convaincantes contre cette hypothèse. Si, par contre, les cellules tumorales se produisent par mutation, un tel procédé doit permettre d'isoler des souches de deux sortes, mais les souches tumorales seront moins nombreuses au cours des premiers isolements et deviendront de plus en plus nombreuses, avec le temps, chez les souches normales. Les souches normales doivent quelquefois donner naissance à des souches tumorales et vice-versa. Ni les souches normales ni les souches tumorales ne resteront constantes. Nous avons déjà beaucoup de preuves en faveur de ce point de vue, encore et surtout dans les travaux de SANFORD. Et enfin, si l'adaptation graduelle est vraiment importante, nous ne devons trouver, au commencement, aucune cellule tumorale, ou très peu, tandis que leur nombre doit apparaître de plus en plus important dans toutes les souches, finissant même par des transformations massives. Les études de SANFORD et EARLE montrent clairement que le second processus, c'est-à-dire la mutation dans des souches d'origine unicellulaire, est certainement un fait, mais leurs études ne nous permettent pas de rejeter complètement les deux autres possibilités ni d'estimer leur valeur relative. Cependant, nous avons en mains les moyens de donner des réponses à nos questions et de ces réponses dépendra beaucoup notre point de vue sur le cancer, nos méthodes pour soigner la maladie et nos procédés pour la diminuer ou la supprimer. Si le cancer est surtout d'origine embryonnaire, nous devons concentrer nos efforts sur la limitation et autant que possible la suppression d'une condition qui sera toujours avec nous, tandis qu'avec la seconde (mutation) et la troisième (adaptation) nous aurons quelque espoir d'éliminer les causes d'irritation chronique.

Les cultures de tissus doivent certainement rendre des services importants, par des voies diverses, dont certaines restent à trouver, et donner des réponses à ces questions. Il faut continuer à nous tenir toujours en alerte pour exploiter toutes ces possibilités.

QUELQUES ASPECTS DE LA NUTRITION DES CELLULES ET DES TISSUS

La nutrition cellulaire est le fondement de tout métabolisme, donc de toute physiologie et de toute pathologie. Il n'y a aucune fonction qui n'exige pas ou ne prépare pas des modifications du chimisme de la cellule. Ce sont souvent des relations extrêmement complexes et avant d'aborder des fonctions complexes il vaut mieux préciser les besoins les plus simples, les besoins fondamentaux de la croissance et de la multiplication.

Au commencement de l'étude des cultures de tissus, ces besoins ne furent pas examinés; ils étaient considérés comme déjà établis. Les premières cultures des cellules animales qui avaient donné une croissance illimitée, celles de BURROWS et CARREL en 1910, avaient pour base des matières choisies d'une façon empirique : une simple solution de TYRODE avec le sérum et l'extrait d'embryon de poulet comme source d'énergie et de matière azotée. Les premières cultures continues d'organes et de tissus végétaux étaient semblables; mes cultures de racines de tomate, en 1934, et des tissus tumoraux de tabac en 1949 étaient préparées sur une solution USPENSKI, un sucre et un extrait de levure. Le sérum et l'extrait de levure donnent encore de bons résultats si on ne s'intéresse qu'à une croissance exubérante sans demander trop de détails sur l'origine de cette croissance. Mais les sérums, même de sources assez standardisées, ne sont pas uniformes. Ils peuvent, par exemple, contenir des virus qui falsifient les résultats. Ils contiennent toujours des traces incon- nues et souvent importantes de métaux. Que ces traces puissent être importantes et difficiles à déceler est démontré d'une façon éclatante par l'histoire du cobalt comme élément essentiel. Les moutons de la Nouvelle Zélande étaient quelquefois atteints d'une maladie de dégéné- rescence, surtout dans des pâturages particuliers. Après avoir échoué dans la recherche d'un agent infectieux, on a finalement noté des diffé- rences de concentration en fer dans les sols des champs « sains » et des champs « malades ». On a réussi à guérir la maladie en ajoutant des traces de sels de fer dans les engrais, mais seuls, quelques sels de fer de provenance particulière se sont montré efficaces. L'analyse a montré

des traces de cobalt comme impureté dans ces traces de sels de fer et on a commencé à remplacer le fer par des quantités encore plus petites de sels du cobalt, avec des résultats plus positifs. Maintenant nous reconnaissons le cobalt comme élément essentiels de la molécule de la vitamine B₁₂. Nous employons couramment, dans mon laboratoire, la vitamine B₁₂ dans nos milieux de culture pour les cellules animales, à une concentration d'un quinze-centième de millimole, c'est-à-dire une part de vitamine dans cinq millions de parties du milieu, soit à peu près une part de cobalt dans un milliard de parts de ce même milieu. On n'aurait jamais trouvé cela par l'analyse d'un sérum! En raison de ces caractéristiques imprévisibles de toute matière d'origine animale et végétale, il faut éviter autant que possible leur emploi dans des recherches exactes. C'est des études que nous avons effectuées dans mon laboratoire sur ce sujet que je veux parler aujourd'hui.

Les milieux de culture contiennent trois parties essentielles outre le véhicule : l'eau. Ces trois parties sont : une source d'énergie (un glucide), une série de sels minéraux équilibrés et une source des matériaux azotés soit minéraux soit organiques. Le sérum et la levure contiennent des quantités assez bien connues de chacune de ces trois catégories. Si les sérums sont des milieux complets, nous n'aurons besoin de rien ajouter. Dans le corps, c'est le sérum qui contient tous ces matériaux et chez la plante tous existent dans les sèves du xylème ou du phloème. C'est ainsi que HARRISON a réussi à satisfaire les besoins de courte durée des cellules nerveuses avec la seule lymphe de grenouille.

Mais, bien que le sérum soit certainement un milieu « complet », on aurait tort d'en conclure que c'est un milieu idéal. Le sang est la source de tout matériel nutritif, mais c'est également l'égout dans lequel sont versés tous les déchets de catabolisme cellulaire, et l'équilibre entre les matériaux nécessaires et ceux qui sont nocifs doit souvent être rompu dans le sens défavorable. Seul le lavage rapide fourni par des mécanismes accessoires nous permet de considérer les liquides qui entourent les cellules des mammifères comme des milieux convenables. C'est en effleurant ces faits que beaucoup de chercheurs se sont heurtés à des difficultés considérables.

CARREL et BURROWS ont réussi à diminuer la concentration de sérum-jus d'embryon de 100 % à 50 % en ajoutant une simple solution de TYRODE glucosé. Ils ont évidemment ainsi remplacé en partie les sels et les glucides du sérum, mais ils n'ont pas tiré la conclusion qui semble aujourd'hui claire, c'est-à-dire que l'équilibre : sels-glucides contre matières azotées dans le sérum n'était pas un milieu optimum, que le

sérum est une solution déficiente en sels-glucides par comparaison à son contenu azoté. Les efforts subséquents de BURROWS, CARREL, BAKER et EBELING pour remplacer les 50 % de sérum par des mélanges d'acides aminés, dans la conviction que seules les matières azotées du sérum étaient importantes, n'ont pas réussi; la formule de CARREL : moitié solution de TYRODE — moitié matière d'origine organique, est devenue classique et l'est restée jusqu'à la dernière décade.

Les recherches en vue de découvrir pour les tissus végétaux, des milieux d'origine semblables au sérum ont échoué complètement dès le début et ont forcé nos botanistes à examiner le problème de plus près. Tous les extraits de tissus, des sèves tirées du xylème ou du phloème, des produits de digestion de toute sorte, essayés par des chercheurs avant 1930 se sont montrés toxiques. Seul l'extrait de levure employé par ROBBINS en 1922 et la peptone employée par KOTTE à la même date furent satisfaisants, et cela seulement à des concentrations beaucoup plus basses, c'est-à-dire à moins d'un pour cent dans une solution équilibrée de sels et de glucide. Donc, la levure, comme le sérum fournit une solution déficiente en sels et en glucides. C'est en tenant compte de ces faits que, commençant mes propres études en 1928, j'ai été amené à examiner en premier lieu les sels, puis les glucides.

Les savants du XIX^e siècle qui ont étudié la nutrition fondamentale des plantes cultivées ont si bien réussi que leurs formules sont également effectives pour les tissus végétaux. En réexaminant la question avec les racines de tomate, je suis arrivé à peu près à la même formule que celle utilisée en 1843 par KNOP, sauf en ajoutant les métaux oligodynamiques : le fer, le zinc, le manganèse, le bore et l'iode, et plus tard le cuivre et le molybdène. Mais nous n'avions pas de tels jalons pour l'étude des glucides. Les glucides complexes comme l'amidon sont généralement digérés pour donner des monosaccharides, et on croit ainsi y trouver la justification de l'emploi du glucose comme source d'énergie. Mais l'expérience nous renseigne différemment; la plupart des plantes, réduites à des tissus ou des organes isolés, utilisent plus facilement ou même uniquement le saccharose. Avec une solution de sels convenables et du saccharose et avec un extrait de levure comme matière accessoire, j'ai réussi, en 1934, à avoir pour la première fois une croissance illimitée de racines de tomate. Cette souche, isolée en mars 1933, est encore, après plus de 27 ans, capable d'une croissance de plus d'un centimètre par jour. Avec cette formule fondamentale, nous étions prêt à aborder les détails, et le premier de ces détails était l'élimination par analyse de la levure. Puisque cette analyse a servi plus tard comme modèle

pour celle du sérum je puis la prendre comme exemple en la détaillant quelque peu.

Au commencement la concentration optimum de levure sèche était établie à 100 gr. par litre de milieu. La levure était préparée par ébullition de la poudre pendant une demi-heure, suivie par filtration sur papier. Ce traitement n'a pas diminué, a même augmenté son activité par comparaison avec l'emploi de la levure à froid et sans filtration. La matière essentielle est donc stable à 100° et complètement soluble. La filtration avait enlevé 64 % du poids d'origine. La matière essentielle a aussi passé complètement à travers une membrane de dialyse. Elle était donc constituée de molécules relativement petites. L'extraction à l'alcool à 85° laissait 98 % de matière inerte en dissolvant 2 % de matière active. Ces 2 % étaient stables dans l'acide trichloro-acétique bouillant, mais détruits par l'acide nitreux, donc azotés mais sans protéine, sans peptone, avec la forte probabilité que les acides aminés peuvent y jouer un rôle important. L'extraction secondaire à l'alcool à 100 % séparait deux matières, chacune essentielle, et celle qui était soluble n'était évidemment pas un acide aminé. Sans donner de détails, nous sommes arrivés à une formule comprenant la glycine à moins de 0,05 % et des traces encore plus faibles de vitamines : thiamine, pyridoxine, acide nicotinique, et pour quelques tissus des auxines. Les résultats ne sont pas simples et il existe des voies alternatives; par exemple les racines de tomate peuvent se dispenser de glycine et utiliser le nitrate minéral comme source d'azote en présence de pyridoxine, mais pas en son absence. Mais les faits sont clairs et depuis 1939 nous sommes en mesure de préparer des milieux complètement définis pour les organes et les tissus végétaux. L'introduction dans la pratique d'une matière stimulante mais pas essentielle, de composition inconnue, sous forme du lait de coco, est une régression, en quelque sorte, valable uniquement comme base pour un nouveau départ.

Un aspect particulier de ces études mérite quelque attention. Les concentrations exactes des matières sont souvent de la plus grande importance. Pour la glycine, par exemple, et pour le fer, des écarts trop grands d'avec l'optimum peuvent avoir des résultats mortels. Il faut se souvenir de ce fait en considérant les problèmes des tissus animaux.

Quelques années plus tard, nous en sommes venus, dans mon laboratoire, à essayer l'étude de problèmes de la nutrition des cellules animales de la même façon. La formule de CARREL était encore classique en 1945. Cette formule consistait en 50 % d'une solution équilibrée de sels, la solution de TYRODE, 40 % de sérum ou de plasma de poulet, et

10 % de jus d'embryon. A cette époque, il n'existait guère, dans la littérature d'indications sur le moyen de remplacer ces facteurs inconnus : quelques articles de CARREL et BAKER, quelques études des bouillons de LEWIS et de DOLJANSKI, et une étude danoise, celle de FISCHER, que je ne connaissais pas encore, du fait de la guerre de 1940-45, sur des acides aminés.

J'ai commencé par un essai de synthèse, prenant des matières capables d'effets importants dans la bactériologie, la protozoologie ou la nutrition générale. Ces études m'ont amené à développer une formule de sels, de vitamines et d'acides aminés qui suffisaient à maintenir l'activité du muscle du cœur et le mouvement des fibroblastes de poulet pendant plus de six semaines, mais sans multiplication après les deux premières semaines. Ce milieu différait de la solution de TYRODE par quelques variations dans les sels principaux, mais surtout par la présence de sels des métaux lourds : le fer, le manganèse, etc., par le niveau élevé de glucose, et par la présence de vitamines et d'acides aminés.

Prenant cette formule à la place de la solution de TYRODE dans la formule de CARREL, nous avons pu immédiatement éliminer le jus d'embryon. Je n'ai pas employé de jus d'embryon dans mes milieux pour la culture de tissus animaux depuis plus de cinq ans. Et nous avons diminué la concentration de sérum de 40 % jusqu'à 5 %. De là, nous en sommes venus à réexaminer quelques caractéristiques du milieu. Il est devenu évident que le sérum avait apporté des quantités importantes des glucides, des matières azotées, des acides nucléiques avec leurs phosphates organiques, et probablement des vitamines et des minéraux oligodynamiques. Mais l'addition d'acides nucléiques au milieu n'a pas amélioré les résultats. Par contre, la substitution de phosphates minéraux aux phosphates organiques a donné des résultats spectaculaires. Nous sommes arrivés à augmenter la concentration de phosphate minéral vingt fois par rapport à celle de la solution de TYRODE; nous avons augmenté la concentration de glucide huit fois, mais nous avons diminué considérablement la concentration de bicarbonate, qui semble avoir servi en grande partie à neutraliser les acides organiques libérés par l'autolyse du jus d'embryon et du sérum dans les milieux classiques. Nous avons aussi modifié largement d'autres détails. Donnons des exemples.

Notre milieu provisoire était préparé à partir de huit « stocks » concentrés. L'un de ces huit, dit « stock A-C », était un mélange de vitamines peu solubles dans l'eau, dissous dans de l'alcool et tamponné avec du glutathion et de la cystéine. Des expériences avaient démontré qu'en éliminant ce stock, on obtient une croissance très malade. Mais

quand nous avons commencé à analyser cet effet en éliminant un à un les constituants de ce mélange, il est devenu évident que les vitamines n'y avaient aucune valeur, que seule la cystéine était essentielle. En augmentant de 15 fois la concentration de cystéine et en éliminant la vitamine A, le carotène, le glutathion et l'éthanol, nous sommes arrivés à un beaucoup meilleur résultat. De même pour les acides aminés. En ajoutant des quantités considérables de glutamine, on peut éliminer les acides glutamique et aspartique, la glycine et probablement d'autres corps. Par contre, l'addition de tyrosine augmente largement la croissance mais ne permet pas d'éliminer d'autres acides aminés. Nous avons ajouté l'hyphoxanthine. Mais les résultats préliminaires suggèrent que nous pourrions probablement éliminer la plus grande partie des vitamines dans notre milieu, sans aucun inconvénient.

En faisant toutes ces modifications, nous avons pu diminuer encore la concentration du sérum de 5 % à 0,1 %. Nous sommes même arrivés à une croissance lente en l'absence totale de matière inconnue, mais pas à une croissance suffisamment rapide pour maintenir des souches habituelles.

Une concentration de 0,1 % de sérum fluide représente à peu près 0,01 % de matière sèche. Ceci est l'équivalent de 100 gr. de levure par litre avec lesquels nous avons commencé nos études sur les racines de tomate, il y a vingt-cinq ans. Il faut l'éliminer. Ma collègue, Dr. WAYMOUTH a trouvé à ce point qu'on peut substituer au sérum, dans nos formules, une quantité égale d'une peptone. La peptone est plus uniforme et plus facile à préparer, donc est un beaucoup meilleur base d'expérience.

Le Dr. WAYMOUTH a commencé, il y a trois ans, l'analyse de cette peptone, comme je l'avais fait pour la levure, et les résultats préliminaires se ressemblent d'une façon frappante. La matière essentielle de la peptone, comme de la levure, est stable à 100°, même dans des solutions acides à pH 4,0 ou alcaline à pH 10,0. Elle est soluble dans l'alcool à 85 % mais pas à 100 %. Et, chose particulièrement importante, elle passe à travers une membrane de dialyse presque en totalité pendant les 30 premières minutes de traitement. C'est donc une matière constituée de petites molécules, certainement pas un peptide complexe, probablement pas plus grandes que les acides aminés eux-mêmes. Ces analyses ont, comme pour la levure, permis l'élimination de 98 % de matière sèche de la peptone pour arriver à peu près à 2 milligrammes de matière essentielle et inconnue par litre du milieu.

Oligo-éléments employés surtout pour les tissus végétaux (en mg/l) *

FeCl ₃ . 6H ₂ O	1
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	1
H ₃ BO ₃	1
MnSO ₄ . 4H ₂ O	0.1
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.03
AlCl ₃	0.03
NiCl ₂ . 6H ₂ O	0.03
KI	0.01
Acide indol-acétique	0.01

* Le docteur Waymouth commence à employer quelques éléments oligodynamiques, surtout le fer, le zinc et le manganèse, pour les cellules animales, avec des résultats importants (Travaux encore inédits).

Oligo-aliments employés surtout pour les tissus animaux (en mg/l) *

Choline HCl *	125	Nicotinamide	0.025
Acide ascorbique	8.75	Inositol. 2H ₂ O	0.025
Ca-pantothénate	0.025	Acide folique	0.010
Riboflavine	0.025	Vitamine B ₁₂	0.005
Pyridoxine HCl	0.025	Biotine	0.0005
Glutamine	175	l-Acide aspartique	6.0
Cystéine HCl *	45	Glycine	5.0
l-Lysine HCl	24	l-Proline	5.0
l-Histidine HCl	15	l-Leucine	5.0
l-Acide glutamique	15	l-Méthionine	5.0
Hypoxanthine	12.5	l-Phénylalanine	5.0
l-Thréonine	7.5	l-Tyrosine *	4.0
l-Arginine HCl	7.5	l-Tryptophane	2.5
Glutathion	7.5	l-Cystine	1.5
l-Valine	6.5		

* Toutes ces vitamines et quelques autres oligo-aliments, surtout la choline, la cystéine et la tyrosine, sont essentiels pour certains tissus végétaux, par exemple, ceux des tumeurs de *Picea*, mais ils n'ont évidemment aucune importance pour d'autres tissus.

**Solutions équilibrées sel-glucide employées
pour les tissus animaux et végétaux (en mg/l).**

Substance	HELLER (Végétaux)	WAYMOUTH (Animaux)
Dextrose	30,000	2,500
NaCl	—	3,000
NaNO ₃	600	—
KCl	750	75
CaCl ₂ . 2H ₂ O	75	60
MgSO ₄ . 7H ₂ O	250	100
MgCl ₂ . 6H ₂ O	—	120
NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O	125	—
KH ₂ PO ₄	—	40
Na ₂ HPO ₄	—	150
NaHCO ₃	—	1,120
Thiamine	1	0,25

Nous n'avons pas encore identifié ces deux derniers milligrammes. Mais, dans ces derniers mois, leur identification est devenue d'une importance purement académique car, dans l'intervalle, nous avons tellement amélioré notre milieu de base que même ces deux milligrammes ne sont plus nécessaires. Nous avons déjà des milieux ne contenant ni sérum ni peptone et qui permettent une croissance illimitée et rapide de cellules de souris.

Examinons un de ces milieux, désigné comme le MB/751/1 par le Dr. WAYMOUTH, et d'abord considérons les sels minéraux. La concentration de sodium est à peu près la même que dans les milieux classiques tels que ceux de LOCKE ou de TYRODE. La concentration de magnésium est plus que doublée et celle du phosphate est augmentée plus de six fois. Dans mes propres études, je suis arrivé à des concentrations encore plus élevées, atteignant 20 fois celle des solutions classiques. Le Dr. WAYMOUTH a également augmenté la concentration de bicarbonate à peu près huit fois, chose que je n'ai pas trouvée satisfaisante. Nous avons aussi augmenté cinq fois le dextrose.

Ces changements ont tous une base raisonnable. Le sérum est riche en acides nucléiques, c'est-à-dire en matière phosphatée et glucidique, et contient en plus du glucide libre sous forme de glucose ou de glycogène. En supprimant le sérum, il faut substituer quelque chose à

ces sources organiques. Des expériences ont montré que les acides nucléiques n'ont aucune valeur dans ces milieux, mais que le glucose et le phosphate minéral conviennent admirablement. Les sels de magnésium se trouvent également dans le sérum sous forme organique. Par contre, le sodium est presque toujours sous forme soluble de NaCl et n'a pas besoin d'être remplacé; il semble que le calcium et le potassium soient peut-être présents en excès dans les vieilles solution équilibrées. De plus, les sérums sont riches en substances azotées, solubles ou insolubles, mais toutefois assimilables par les cellules. Nous avons fourni ces substances sous forme d'acides aminés. Et nous avons également fourni les vitamines, présentes dans les sérums en quantités mal définies en général. Le Dr. WAYMOUTH n'a pas ajouté de métaux lourds dans son milieu MB/752/1, supposant qu'ils seraient présents en tant qu'impuretés dans d'autres sels. C'est vraisemblablement le cas pour le cuivre, qui est une impureté assez répandue dans le glucose et dans les acides aminés. Mais je ne crois pas que le fer, le manganèse et le zinc y soient en quantités suffisantes. Dans mes expériences, j'ai ajouté ces métaux et, je crois, avec des résultats meilleurs.

Quoi qu'il en soit, le milieu MB/752/1 semble être un milieu pratiquement complet et excellent. La souche de cellules « Strain-L » de souris, cultivée dans ce milieu, montre une croissance en volume, mesuré par microhématocrite, de dix fois par semaine (par repiquage) pendant 22 repiquages aux dernières informations, et ne montre aucune diminution d'allure pendant ce temps. Ceci est à peu près la moitié de la croissance attribuée par EARLE à la même souche dans le milieu classique 20 : 70 : 10; une plus grande vitesse, qui exige des repiquages plus fréquents qu'une fois par semaine, a des inconvénients pratiques et peut même cacher des différences de valeur des milieux. Pour la plupart des expériences, une multiplication de dix fois par semaine est exactement ce qui convient.

On a soulevé l'objection que ces milieux ont été élaborés pendant ces cinq dernières années à partir du milieu classique, par des étapes graduées et avec une souche unique; qu'alors la souche elle-même s'est peut-être « adaptée » à ces nouveaux milieux par les mêmes étapes et que, par conséquent, ce sont les capacités d'adaptation des cellules plutôt que les qualités des milieux que nous avons étudiées. Pour répondre à cette critique, nous avons commandé une nouvelle souche du même « Strain-L », mais une souche qui avait été toujours cultivée sur le milieu 20 : 70 : 10. Cette souche, établie dans notre laboratoire et maintenue dans le milieu 20 : 70 : 10 par plusieurs repiquages de façon à

vérifier ses caractéristiques classiques, était alors repiquée *directement* sur milieu MB/752/1 sans aucune étape intermédiaire. Si nos travaux précédents avaient réellement provoqué une adaptation de la souche, les résultats du repiquage direct auraient dû être mauvais. Il n'en était rien. La souche nouvelle, à vrai dire, s'est montrée un peu moins ferme dans sa fixation au verre de vaisseaux de culture, fait que nous croyons pouvoir attribuer aux qualités colloïdales du sérum plutôt qu'à des facteurs nutritifs, mais c'était la seule différence appréciable; la vitesse de croissance des deux races était exactement la même dans les limites reconnaissables par nos méthodes à l'hématocrite, c'est-à-dire avec une précision de 90 % ou plus. La valeur de notre milieu est réelle.

Nous avons essayé ces milieux sur des autres races de cellules. Des cellules prises directement à des souris, par exemple à notre *teratoma testis* ou à nos souris malades d'une dystrophie musculaire héréditaire, ou à des souris de races atteintes d'une anémie génétique, poussent très bien dans ce milieu. Des cellules humaines ne donnent pas de résultats stables. J'ai réussi à maintenir des cellules d'un carcinome humain, de la race HeLa en croissance rapide sur un de ces milieux additionné de 1,0 % de sérum de lapin; mais, avec diminution de la concentration de sérum, même à 0,5 %, la croissance subit une chute brutale. Il semble que le sérum ne fonctionne pas ici comme matière nutritive mais plutôt comme agent de désintoxication, réagissant en qualité stoïchiométrique avec quelque élément nocif produit par les cellules. J'ai eu toujours l'impression que la souche HeLa est elle-même atteinte d'une infection par virus et que le sérum, dans ces cas, fonctionne pour fixer et inactiver ce virus. Ceci semble être un cas spécial. D'autres souches humaines ont donné des résultats assez irréguliers. Mais, chose certaine, nos milieux synthétiques permettent régulièrement la réduction de sérum ou de peptone à des concentrations de moins d'un pour cent et, dans quelques cas, autorisent leur élimination totale.

Que conclure de tout ceci? Dans des essais avec des cultures extrêmement polymorphes prises dans notre race de *teratoma testis murine*, nous avons trouvé que des modifications de constitution du milieu donnent des résultats importants. On peut, par exemple, supprimer ou provoquer à volonté la contraction régulière de cellules musculaires du cœur, ou le battement des cils d'épithélium du poumon. On se souvient que PARSHLEY, il y a plusieurs années et avec des milieux moins faciles à manipuler avec précision, avait remarqué que le niveau du phosphate peut déterminer ou non le développement d'épithélium dans des cultures mixtes de fibroblastes-épithéliums. Citons encore l'exemple des études de

FELL et MELLANBY concernant l'effet de la vitamine A sur la différenciation des os et des épithéliums kératinisés ou ciliés. Et il y a encore d'autres possibilités. Chez *Neurospora*, il y a des processus synthétiques très sensibles à la température. Le type sauvage pousse bien à toute température entre 27° et 37°. Mais il existe deux races mutées qui montrent une chute brutale à partir de 30°. Cette chute peut être évitée chez une race par addition de riboflavine au milieu, chez l'autre par addition d'adénine. Il est évident que c'est la synthèse de ces deux substances qui est dépendante de la température. Nous avons ici une sorte de question qu'il était presque impossible de poser avec les vieux milieux à base de sérum. Nous devons à FELL et MELLANBY notre admiration pour avoir si bien réussi, même avec un matériel aussi peu satisfaisant. Mais ces problèmes deviennent maintenant non seulement possibles mais même assez faciles à aborder avec les milieux synthétiques. Je peux envisager beaucoup de problèmes à étudier.

Et je suis sûr que M^{me} WOLFF, après toutes ses études sur des milieux beaucoup plus simples, qui lui ont permis des études de morphogenèse d'une durée plus courte, trouvera dans ces milieux, qui ne sont pas difficiles à préparer, un terrain nouveau et élargi.

LA MORHOGENÈSE CHEZ LES PLANTES ET CHEZ LES ANIMAUX

Dans la dernière conférence, j'ai parlé des problèmes de la nutrition des cellules et des tissus, et surtout des problèmes très généraux posés par la nutrition totale de toute cellule, la nutrition qui vient de l'extérieur de l'organisme. Aujourd'hui je vais aborder un autre aspect de ce problème, c'est-à-dire les effets qui résultent des gradients de distribution des matières nutritives dans l'organisme, les facteurs qui contrôlent la forme des organismes, la morphogenèse. Bien que l'étude de la morphogenèse expérimentale et descriptive soit très développée dans l'embryologie animale, je crois que, quand nous demandons des précisions chimiques sur ces processus, nos connaissances sont un peu plus développées sur les plantes. C'est pourquoi je commencerai par parler de végétaux.

Un des plus beaux exemples est celui qui est décrit par VON GOEBELS, chez le tubercule de *Corydalis*. Si on coupe un tubercule horizontalement en son milieu et si on suspend les deux parties dans une atmosphère humide en position naturelle, la surface coupée acropétale produit des feuilles, la surface basipétale produit des racines. Si on coupe verticalement le tubercule en deux la surface coupée ne produira ni feuilles ni racines mais uniquement un cal indifférencié. Ce sont les mêmes cellules dans les trois cas. Le caractère de leur différenciation dépend d'un facteur distribué d'une façon polarisée. Si on renverse les tranches il y a une période indéterminée pendant laquelle la distribution établie dans les tissus est en opposition à la distribution normale, mais finalement la pesanteur prend le dessus et nous aurons des feuilles sortant de l'extrémité-racine et des racines sortant de l'extrémité-feuille. La polarité définitive est imposée, non interne. Le cas des vers, étudié par CHILD, montre lui aussi une polarité, mais surtout une polarité interne.

Nous savons maintenant qu'une substance définie, l'auxine, l'acide indol-acétique joue ici, par sa distribution polarisée, un rôle prépondérant.

Prenons un autre exemple. Le Maïs est une plante robuste, au port érigé, produisant le plus souvent une seule tige avec ses fleurs en bouquet apical, apogéotrope. Les graminées des prés sont aussi érigées. Mais

il y a des graminées spéciales pour les pelouses et surtout pour les terrains de golf, les « bent grasses », qui rampent par terre et ne dressent verticalement que les derniers étages fleuris. Et il y a également un Maïs du même type rampant dit « Maïs paresseux » (« Lazy corn »). VAN OVERBEEK a démontré que, dans les tissus du « Lazy corn », il n'y avait

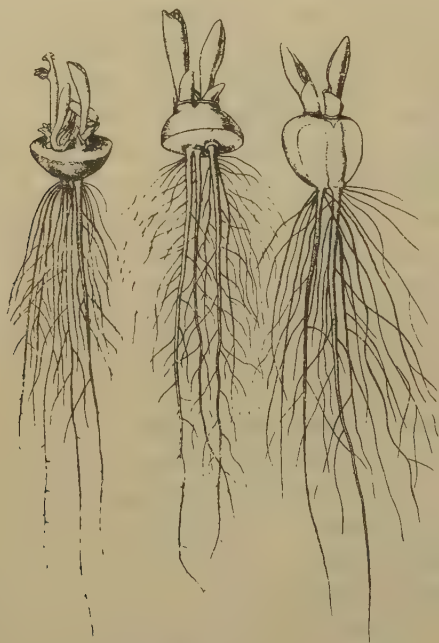


Fig. 26. — Polarité dans la morphogenèse de *Corydalis solidula*. A la suite d'une section horizontale dans un tubercule, la surface de régénération acropétale produit uniquement des feuilles, la section basipétale, uniquement des racines. Après section verticale, la régénération produit un cal indifférencié. Ce sont les mêmes cellules dans les trois cas; donc le caractère de régénération est déterminé par des facteurs extérieurs, surtout l'orientation spatiale; d'après GOEBEL.

pas une distribution anormale d'auxine mais un enzyme qui détruit l'auxine presque aussitôt que celle-ci est formée. L'auxine détermine la croissance des cellules dans lesquelles elle se trouve mais dans ce cas-ci, n'étant pas transportée, elle ne peut pas établir de gradients polarisés. Les tissus de la plante ont donc une croissance presque apolaire, la plante ne réagit pas à la pesanteur par intermédiaire d'un facteur de croissance mais

uniquement par son propre poids et nous avons une plante rampante par simple faiblesse, dont la morphogenèse est encore déterminée par une seule substance, l'auxine.

Ce sont des morphogenèses générales qui n'exigent pas un examen au niveau cellulaire. Prenons encore un exemple un peu plus détaillé. Chez beaucoup de plantes, les premières feuilles de la plantule issue de l'embryon ont une forme simple qui devient de plus en plus complexe avec chaque feuille subséquente pour arriver finalement, après peut-être dix feuilles, à un caractère adulte. Chez la fougère *Osmunda cinnamomea*, la première feuille du sporophyte est simple, la seconde bifide, la troisième trilobée à lobes simples, la quatrième trilobée à lobes bifides, la cinquième à cinq lobes, etc. Qu'est-ce qui détermine cette succession? Dans des études sur la culture des embryons de cerises et de pêches, TUKEY avait remarqué qu'il y a une progression dans les besoins en sucre de ces embryons. S'appuyant sur ces découvertes, WETMORE et STEEVES, employant les méthodes de la culture des tissus dans leurs études de la fougère *Osmunda cinnamomea*, ont trouvé que là aussi le caractère des feuilles est déterminé par la concentration du glucide dans le milieu. Le type juvénile simple représente la concentration faible prise aux tissus du gamétophyte par le petit sporophyte, tandis que le type adulte est produit par la concentration élevée provenant des tissus photosynthétiques des feuilles voisines déjà développées et en pleine activité. C'est ainsi que de l'étiollement à l'obscurité résulte une régression vers le type juvénile. On peut supposer, d'ailleurs sans preuve, que les formes des autres feuilles polymorphes comme le Ginkgo, les Phylodendrons ou le Sassafras peuvent avoir une origine semblable; dans ce cas, ce serait une question de nutrition glucidique plutôt qu'une question d'auxine.

Nous avons, chez les animaux, un exemple semblable dans les travaux de SPRATT sur la différenciation de l'embryon du poulet, enlevé avec son blastoderme et mis en culture. Dans ce cas, les développements des tissus nerveux et des tissus du cœur et du système circulatoire peuvent être séparés par modification du taux en glucide du milieu; on peut arriver à un système nerveux en l'absence du système circulatoire, par dégénérescence de celui-ci, ou à un système circulatoire sans système nerveux, ou à tous les deux ensemble. D'autres expériences montrent que ces résultats sont liés à la respiration des cellules. Ces faits font penser aux résultats de SKOOG qui a obtenu des racines, des feuilles, des racines et des feuilles, ou des cals indifférenciés à partir de morceaux de moëlle de tabac, par modification du taux de cinétine, d'adénine, de phosphate et de glucide.

Encore un exemple. Les tumeurs végétales sont caractérisées par une synthèse d'auxine dans les tissus altérés, soit par les tissus de la tumeur elle-même, soit par quelque agent tumorigène comme les bactéries du Crown-gall. Ceci est évident dans l'épinastie qu'on voit dans des plantes atteintes de tumeurs produites par des races virulentes de bactéries, épinastie qu'on ne trouve pas chez des plantes infectées par des bactéries bénignes. Une tumeur très étudiée est celle de *Sequoia sempervirens*, caractérisée par le développement des rameaux feuillés anormaux en « balais de sorcière ». En culture BERNOUD a réussi à faire développer en une série complète d'étapes, des cals parenchymateux indifférenciés, des bourgeons à rameau simple sans feuilles, jusqu'à des rameaux feuillés, en modifiant la concentration de la substance de croissance, dans ce cas le 2-4-D, dans le milieu nutritif. Les « balais de sorcières » sont d'origine très variée; chez les Myrtilles, ce sont des champignons ou des virus qui en sont la cause; chez le Mélèze, c'est une espèce de gui nain, le *Razoumovkia*; chez *Solidago*, c'est quelquefois une cécédie provoquée par un insecte. Certainement on peut voir dans ces malformations des troubles du métabolisme. Les modifications du métabolisme d'auxine sont assez faciles à définir, celles du métabolisme glucidique le sont un peu moins, les troubles du métabolisme au niveau des vitamines enfin sont presque impossibles à déceler à présent.

Mais, dans les travaux de FELL et MELLANBY, ce sont précisément ces questions de métabolisme des vitamines qui ressortent comme étant d'importance primordiale dans la morphogenèse des os et des épithéliums. Les épithéliums du corps sont d'une grande variété. Il y a peu de ressemblance, par exemple, entre l'épithélium cilié de la muqueuse nasale et la peau kératinisée et écailleuse de la jambe d'un poulet. Si on cultive ces deux épithéliums dans les milieux classiques, il y a une régression des deux types vers un type moyen, ni cilié ni kératinisé. Mais on sait depuis longtemps que la kératinisation de l'épithélium nasal avec perte d'odorat est un signe de carence en vitamine A. FELL et MELLANBY ont démontré qu'on peut transformer l'épithélium de la peau en forme ciliée en le cultivant sur un milieu auquel on a ajouté un excès de vitamine A, et qu'on peut transformer l'épithélium cilié en forme kératinisée en le cultivant sur un milieu préparé avec du sérum de poules carencées en vitamine A. On peut provoquer des transformations semblables dans les os, par les mêmes moyens. Le caractère des épithéliums et des os est donc déterminé par des différences d'approvisionnement de vitamines aux cellules en voie de différenciation. Il s'agit ici de morphogénèses par évocation ou par suppression des capacités cellulaires. Elles

impliquent évidemment la possession, par les cellules, des qualités qui sont, en général, tenues en échec; les cellules possèdent des capacités beaucoup plus larges que celles qui sont exprimées dans le développement normal. La stabilité des types cellulaires est depuis longtemps un principe fondamental dans la morphologie, un principe qui trouve, semble-t-il, un support inébranlable dans les cultures des tissus de CARREL et de PARKER. Des non-orthodoxes comme moi-même ont toujours douté de la validité de ce principe, mais ce n'est que récemment qu'on a commencé à trouver des moyens de le mettre en doute.

Le développement des œufs des animaux et surtout des échinodermes et des amphibiens a trouvé une place importante dans l'étude des morphoses. Le professeur WOLFF a beaucoup étudié le problème de la formation des jumeaux et des monstres intermédiaires. Il y a aussi des exemples chez les plantes qui, autant que je le sache, n'ont pas été étudiés de ce point de vue. La polyembryonie par fertilisation multiple, la production des « jumeaux fraternels » est très répandue chez les plantes et sans beaucoup d'intérêt. La polyembryonie adventive, par développement des tissus somatiques, à partir des tissus accessoires : nucellus, endosperme etc., est d'un grand intérêt du point de vue du matériel expérimental, mais il ne s'agit pas de jumeaux proprement dits. Ils ont leur contrepartie chez des animaux, mais dans un cas tout spécial que je vais présenter en détail plus tard. Il existe aussi des jumeaux identiques chez beaucoup de plantes. La séparation des cellules venant des premières divisions de l'œuf est quasi universelle chez les Gymnospermes, commune chez les Orchidées, et existe chez d'autres espèces, par exemple chez *Erythronium* et chez quelques bananes. En général, un seul embryon émerge de la compétition dans le sac embryonnaire et nous avons une monoembryonie effective, mais il y a des exceptions. La production de plusieurs plantes à partir d'une seule semence et d'un seul œuf est commune chez *Musa seminifera*. Ces matériaux présentent un grand intérêt pour les expériences qu'on peut envisager sur les facteurs responsables pour l'initiation, le développement et la survie de ces embryons, étude à peine ébauchée. Je ne connais dans ce domaine que les travaux de l'école de BLAKESLEE, et surtout sur des embryons adventifs, accessoires, d'origine asexuée.

Il y a des exemples semblables chez les animaux. Il existe chez l'homme et chez les animaux une maladie, souvent maligne, caractérisée par le développement de tissus pseudo-embryonnaires très variés, surtout dans les glandes sexuées; ce sont les tératomes ovariens et testiculaires. Dans notre laboratoire, nous avons une race particulière de souris, la

race 129, dans laquelle à peu près 1 % des mâles sont atteints d'un *teratoma testis*, généralement unilatéral. Les tissu qui se développent dans ces tumeurs sont très divers, cependant ils ne produisent jamais

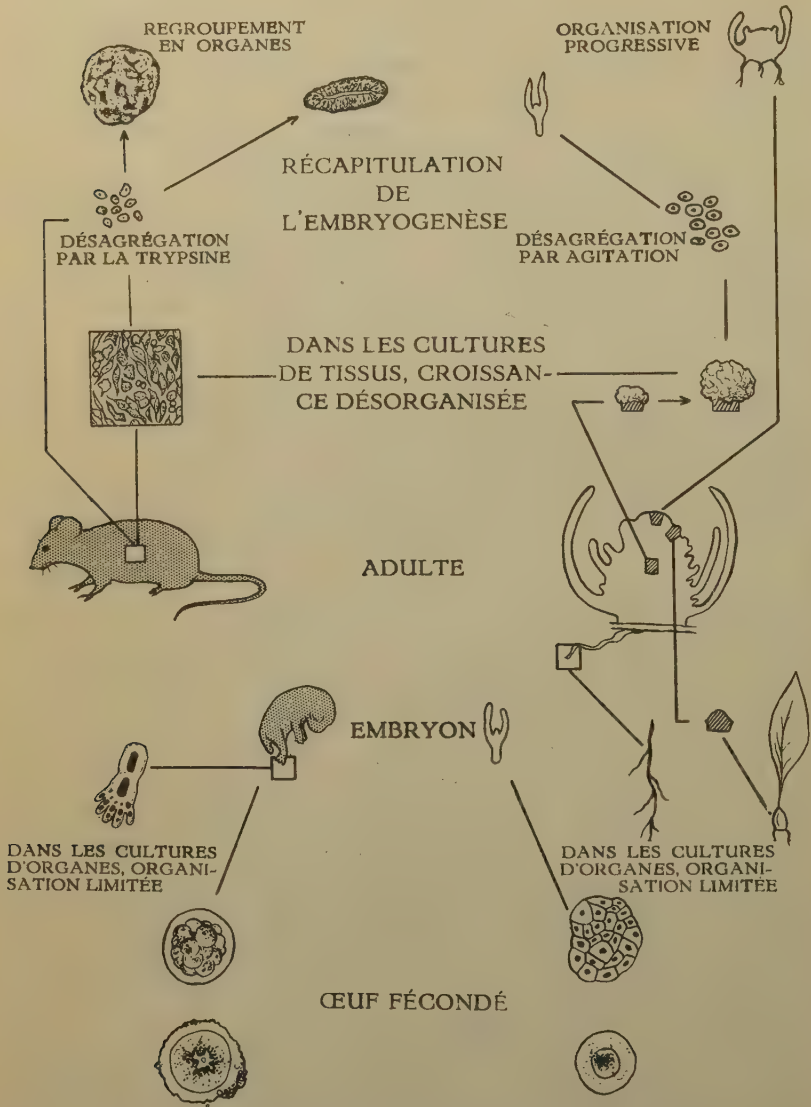


Fig. 27. — Schéma des développements que l'on obtient en isolant des cellules et des tissus soit animaux, soit végétaux, dans des conditions et à des périodes d'ontogenèse variées.

de dents; on observe des neurones, des épithéliums ciliés, des tissus surrénaux et des tissus conjonctifs (67 %) du cartilage et des os (80 %), du muscle cardiaque et squelettique (30 %), etc. Nous avons fait des cultures de tissus de ces tératomes et, bien que les détails soient encore inédits, je ne crois pas incorrect de les mentionner ici. Ces tumeurs sont caractérisées par une grande échelle dans le degré de différenciation. La répercussion s'en fait sentir sur la transplantation, la multiplication *in vitro* et la capacité de devenir cancéreuses, c'est-à-dire métastasantes. Les tumeurs qui ne se différencient pas, qui restent parenchymateuses, sont assez faciles à cultiver et deviennent souvent cancéreuses. Les tumeurs qui se différencient très tôt sont plutôt caractérisées par un seul type de cellule, la cellule osseuse par exemple ou celle du muscle cardiaque; elles sont difficiles à établir *in vitro*, et ne sont presque jamais malignes. Du plus grand intérêt sont les exemples intermédiaires, les tumeurs qui se différencient d'une façon lente. Dans ces cas, il se développe une grande variété de tissus et souvent dans un ordre assez bien établi : des tissus conjonctifs d'abord, puis des tissus nerveux, et finalement des glandes et des os. Quand des tissus de ces tumeurs sont prélevés à l'état primitif, dans lequel nous ne reconnaissons que des cellules conjonctives, et lorsque ces cellules sont maintenues en culture continue, sans repiquage, nous voyons se développer la même séquence de tissus variés que dans l'animal. Il *semble* bien que, en enlevant un morceau par biopsie, nous ayons évidemment un grand nombre de cellules qui peuvent représenter une population mixte; il semble que nous ayons ici une modulation progressive d'un type de tissu pour donner d'autres types. Si c'est vrai, nous avons la preuve nouvelle du caractère tout puissant et malléable des cellules, preuve qui s'oppose à l'idée de stabilité des types tissulaires. Mes collègues sont en train d'établir des races clonales de ces tissus, des races développées à partir de cellules uniques et, des résultats d'études sur ces races, nous pensons obtenir une réponse définitive à cette question.

Mais en attendant nous avons enregistré aussi un autre résultat. On a observé plusieurs fois, dans les tératomes humains et animaux, de petits organites qui suggèrent des embryons complets et normaux. Les Anglais ont nié l'existence de véritables embryoïdes tandis que les Français, PEYRON et GAILLIARD par exemple, ont soutenu énergiquement leur existence. Mais ces idées étaient basées sur des évidences histologiques. STEVENS, travaillant avec des tératomes testiculaires de souris et voulant les établir comme des tumeurs ascites péritonéales, a digéré ces tumeurs légèrement à la trypsine et a injecté la suspension cellulaire ainsi pré-

parée dans la cavité péritonéale de souris saines. Il a alors observé des embryoides en grand nombre. Allant plus loin, il a établi des cultures de tissus à partir des cellules trypsinisées, dans nos milieux liquides synthétiques, sans substratum solide, et dans ces conditions encore il a observé le développement d'un grand nombre d'embryoides.

L'embryon, en se développant dans l'utérus, est normalement suspendu dans un milieu quasi-liquide. Ce sont, au commencement, des conditions presque totalement « impolarisées ». L'approvisionnement en nourriture, la respiration sont à peu près égaux sur toute la surface pendant le développement de la blastula. Plus tard, avec l'implantation sur la muqueuse utérine, ces relations deviennent polarisées. Et il existe, sans aucun doute dans l'embryon, après l'état de blastula, une polarité interne qui se superpose à la polarité externe et entre en compétition avec elle. Le fait important, c'est que les conditions d'un milieu liquide et presque apolaire sont les mêmes dans l'utérus, dans la cavité péritonéale et dans les cultures de tissus. Et dans les deux derniers cas, nous voyons des cellules somatiques prélevées sur un organisme adulte prendre la même structure, la même séquence d'arrangement, la même morphologie, et plus tard d'une façon moins définie la même série histogénétique que les embryons issus des œufs véritables. Ces cellules, ou du moins ces masses cellulaires, sont encore omnipotentes, embryogènes, comme les cellules du nucellus des plantes qui donnent naissance à des embryons adventifs.

Il semble que nous ayons ici un matériel particulièrement bon pour l'étude des capacités cellulaires et leur manipulation expérimentale. Et, en combinant ces études avec l'emploi de nos milieux synthétiques, nous pourrions finalement aborder beaucoup de problèmes fondamentaux. En variant la composition du milieu, le Dr STEVENS a réussi, par exemple, à provoquer ou à supprimer à volonté le développement du muscle cardiaque dans ses cultures. Ce sont des « embryons » provenant des tissus somatiques de l'animal, sans rapport avec les phénomènes sexuels. Il s'agit d'une véritable parthénogenèse. C'est le matériel avec lequel nous pourrions espérer établir de véritables clones de mammifères. Si ces embryons sont capables de se développer jusqu'à la maturité, nous aurons des races vraiment homozygotes. Il est impossible à présent de prédire si on peut espérer arriver à des individus capables de fonctions sexuelles, mais dans l'affirmative, on peut espérer aborder la question des mutations dans ces individus, mutations qui seront d'origine somatique mais dans lesquelles on pourra déterminer leur constitution

par les méthodes de la génétique classique. On n'ose pas aller trop loin dans ces rêves!

Ces embryons sont de véritables embryons adventifs, tout à fait comparables aux embryons nucellaires des *Citrus* et de tant de Composées comme le Pissenlit. Là aussi, la polyembryonie n'a pas encore été soumise aux études expérimentales qu'elle mérite. Autant que je le sache, personne n'a essayé de cultiver *in vitro* ces embryons adventifs de plantes, sauf l'école de BLAKESLEE qui avait un tout autre but. Pourquoi les embryons adventifs de *Citrus* diffèrent-ils des embryons syngamiques en manquant de suspenseur? Les deux catégories sont dans le même milieu liquide d'un côté : sac embryonnaire, solide de l'autre côté : nucellus; les deux vont se développer finalement en plantules qu'on ne peut pas distinguer sauf que les embryons adventifs ont une génétique purement maternelle et uniforme, les syngamiques une génétique hétérogame et variée, mais les adventifs ont exactement la même génétique que le syngamique unique de la génération antérieure. Pourquoi cette seule petite différence de morphogenèse?

Que ces potentialités labiles existent ailleurs que dans les tératomes est démontré par un autre exemple curieux pris chez des souris du Laboratoire JACKSON. Dans l'élevage habituel par mariage frère-sœur d'une race dite « DA/Hu », une femelle, le n° 2082, s'est développée avec une papille sur la queue et des doigts soudés à la patte avant droite. Mariée à son frère, elle produit 18 petits en 5 familles. Trois des petits présentaient des anomalies anatomiques, mais pas les mêmes que celles de leur mère : des crânes ouverts, des duplications de pattes et d'organes, des pattes polydactyles, et des papilles variées. Ces animaux étaient néanmoins fertiles et, mariés à des individus de la même race, ont été à l'origine d'une race dans laquelle deux tiers des individus sont anormaux. Cinquante pour cent des animaux anormaux ont des crânes ouverts : des cranioschises et des exencéphalies; 40 % ont des papilles variées; 33 % des pattes anormales; 21 % des yeux défectueux, souvent mal placés et quelquefois multiples; 21 % des défauts du système urogénital, etc. Beaucoup d'individus sont atteints de défauts multiples sans aucune relation évidente. On a démontré que ces défauts sont sous la dépendance d'un gène unique, semi-dominant, généralement léthal lorsqu'il est homozygote et d'une pénétration incomplète lorsqu'il est hétérozygote. La chose importante est que ce facteur unitaire donne des résultats dans toutes les régions du corps et dans tous tissus, défauts qui sont complètement imprévisibles. On peut prévoir que quelque chose ira mal dans le développement, mais quoi, à quel point dans l'ontogenèse,

et avec quel résultat, on ne peut le prévoir. La séquence n'a pas la régularité que nous voyons dans le *teratoma testis*. Le Dr HUMMEL, qui a découvert et étudié ce gène a remarqué qu'il « doit toucher quelque élément ou processus métabolique fondamental, doit être effectif pendant toute la morphogenèse et organogenèse de l'individu, et doit subir des modifications importantes mais inconnues par des facteurs extrinsèques également inconnus ». On l'a nommé le « gène désorganisant ».

Nous n'avons pas encore étudié ni les tissus, ni les organes, ni les embryons de cette race étrange, par la méthode de culture de tissus, ni même par des interventions chirurgicales. On peut se demander ce que deviendront des blastèmes, des cals développés sur des plaies chirurgicales chez des individus atteints d'un tel déséquilibre de morphogenèse. On pense à nos hybrides déséquilibrés des tabacs et au rôle des blessures dans le développement des cancers sur ces plantes. Quel sera, en culture, le résultat de la croissance des divers tissus de ces animaux? Qu'aurons-nous en faisant des cultures péritonéales à partir de suspensions des cellules provenant d'individus défectueux, comme nous l'avons fait avec le *teratoma testis*? Peut-on également créer ici des embryons clonaux? Le développement de ces embryons sera-t-il également imprévisible? Peut-on « protéger » ces embryons contre les effets nuisibles de ce gène en contrôlant plus exactement leur milieu? Quelles sont les conditions cytologiques et les niveaux des acides nucléiques dans ces tissus anormaux? On peut imaginer toute une série d'expériences à faire avec ces monstres naturels. On pourrait d'ailleurs continuer longtemps à parler sur le sujet de la morphogenèse; je n'ai choisi que quelques exemples isolés, et j'ai essayé de lier autant que possible les exemples chez les plantes et les animaux.

ETUDE SUR LES BOISSONS FERMENTÉES INDIGÈNES DU KATANGA

*par G. BERNIER ET A. LAMBRECHTS
avec la collaboration de :*

*l'Institut de Botanique de l'Université de Liège
(Professeur R. Bouillenne).*

*la Clinique pédiatrique de l'Université de Liège
(Professeur A. Lambrechts).*

Cette étude a été publiée, hors commerce en 1959 par l'Académie Royale des Sciences Coloniales, classe des Sciences Naturelles et Médicales. (Mémoire in-8° Nouvelle Série, Tome IX, fascicule 7 et dernier.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	9
Chapitre I. — Estimation de la quantité de bière produite et consommée	13
1. Production de bière	13
2. Consommation de bière par habitant...	14
Chapitre II. — Les techniques de préparation des bières...	17
1. Le <i>munkoyo</i> de maïs...	17
a) Préparation du matériel de base...	17
b) Récolte des racines d' <i>Eminia polyadenia</i> Hauman...	18
c) Préparation de la bière...	18
d) L'activité des racines de <i>munkoyo</i> ...	19
2. Les autres <i>munkoyo</i> ...	20
a) Préparation de la farine de sorgho	20
b) Préparation de la farine d'éleusine...	21
c) Préparation de la farine de manioc...	21
d) Préparation de la farine de patates douces...	21
3. Le vin de palme (<i>malevu</i>)	21
4. L'hydromel (<i>mbote</i>)	23
5. Le <i>kibuku</i> des Basanga...	23
6. Les boissons de fruits sauvages	25
7. La bière de tige de maïs...	25
8. Le <i>kinseke</i>	26
Les agents de la fermentation	26
Chapitre III. — La valeur nutritive des bières	29
Chapitre IV. — L'importance des bières dans l'emploi du temps et dans le budget des indigènes	35
1. Les bières dans l'emploi du temps des indigènes...	36
2. La fabrication de bières en tant que revenu pour la femme	36
3. La consommation de bière en tant que dépense pour l'homme et la femme	37
Conclusions	39
Bibliographie	41

INTRODUCTION

E. De Wildeman (2) (*) s'exprimait en 1934 à propos des boissons alcoolisées au Congo belge:

«...Nous ne pouvons nous empêcher de rappeler cet avertissement du Foreami au sujet de l'alcoolisme dans notre Colonie: L'alcoolisme cause de grands ravages parmi les populations Bakongo qui, en dehors du vin de palme, n'utilisent pas moins de 7 boissons alcooliques différentes provenant de palmiers d'eau, d'arbres et de lianes, en dehors des alcools de banane et de grain. Il devient de toute nécessité de faire une étude spéciale pour notre Congo de cette question ».

*
* *

Les boissons fermentées indigènes ont toujours eu, au Congo belge, une place importante dans la vie coutumière. Pourtant, peu de travaux leur ont été consacrés.

En 1920, le R.P. H. Vanderyst (12), décrivait la préparation du vin de palme et sa fermentation. De Wildeman (2 et 3), dans ses deux ouvrages *Documents pour l'étude de l'alimentation végétale de l'indigène au Congo belge* et *Notes sur les plantes médicinales et alimentaires du Congo belge*, citait quelques plantes rentrant dans la fabrication des bières indigènes: *Eleusine coracana* (L) Gärth. *Eminia Harmsiana* DeWild., *Parinarium* sp., *Sorghum* sp., *Raphia* sp., *Elaeis guineensis* L., *Saccharum officinarum* L., *Musa* sp., etc.

Trois bières de la région de Léopoldville ont été décrites et analysées par L. Tihon (11): le vin de palme, le vin de banane et la bière de maïs germé; trois autres bières du Ruanda ont été étudiées par E. Adriaens et F. Lozet (1): les bières à base de sorgho germé, de miel et de banane.

A. Poot (8) s'est intéressé au *munkoyo*, boisson à base de céréales, que l'on fabrique dans le Katanga. La préparation de ce breuvage utilise les racines d'*Eminia* déjà citées par De Wildeman.

(*) Les chiffres entre () renvoient à la bibliographie page 43.

F. Grévisse (4) énumère, dans une étude ethnographique, les bières qu'il a rencontrées chez les autochtones du Haut-Katanga: le *busele*, le *munkoyo*, le *kipinde*, le *kinseke*, le *kipumu* et le *mbote* et il esquisse succinctement leurs préparations.

* * *

Cette énumération montre la grande diversité de boissons qu'il a été donné aux Européens de rencontrer au Congo. Tihon (11) disait que:

«...toutes les matières amylacées ou sucrées susceptibles de se transformer en alcool ont servi et servent encore à la préparation de boissons fermentées ».

Notre travail viendra confirmer son opinion.

L'importance des bières ne vient pas seulement de leur diversité et de la quantité considérable qui en est fabriquée et consommée, mais aussi de la place qu'elles occupent dans l'alimentation, dans l'emploi du temps et le budget quotidien de l'homme et de la femme; elles accompagnent toutes les fêtes et cérémonies coutumières.

L'étude aussi approfondie que possible des boissons fermentées utilisées dans les milieux indigènes doit nous permettre d'arriver à une conclusion quant à la valeur de ces boissons envisagées de différents points de vue: nutritionnel, économique et social; il en découlera une opinion sur l'opportunité d'encourager ou de freiner la fabrication de bières indigènes.

Bien que la place occupée par les bières dans l'emploi du temps et le budget de l'indigène soit mentionnée dans ce travail, l'aspect alimentaire et nutritionnel a retenu davantage notre attention. L'appréciation du point de vue socio-économique de la question est en effet plus délicate et ne prend toute sa valeur que dans une enquête englobant l'ensemble du milieu coutumier katangais aux points de vue social et économique.

Au cours d'une mission scientifique de 9 mois, organisée par la Fondation de l'Université de Liège pour la Recherche scientifique en Afrique centrale (Fulréac), dans le Haut-Katanga, en collaboration avec le Cepsi, nous avons étudié les « bières » de fabrication coutumière dans le cadre d'une vaste enquête sur l'alimentation coutumière de la région.

Nous avons pu recueillir sur place des données originales et précises sur la production de bière au village, sur la consommation par habitant et sur l'importance que tiennent les boissons fermentées dans les budgets familiaux. Notre étude ne concerne pas les alcools distillés clandestinement.

* * *

Nous tenons à remercier tous ceux qui ont rendu possible la réalisation de ce travail: en premier lieu, Fulréac, qui organisa notre mission, le Centre d'Etude des Problèmes sociaux indigènes (Cepsi) d'Elisabethville, qui a subsidié ces recherches, le professeur R. Bouillenne qui, tant en Afrique qu'à la Métropole, a suivi notre travail avec attention.

Les analyses chimiques ont été exécutées grâce à la bienveillance de l'Union Minière du Haut-Katanga, du Dr Parent de Jadotville et de Mme Falyse-Etienne, au laboratoire du Service médical à Elisabethville (Dr Delville). Le Centre d'Enseignement et de Recherches sur les Industries alimentaires et chimiques (Ceria) de Bruxelles a effectué les dosages des vitamines.

CHAPITRE I

ESTIMATION DE LA QUANTITÉ DE BIÈRE PRODUITE ET CONSOMMÉE

La quantité de bière (*) produite et consommée a été étudiée au village de Pande, lieu de résidence du chef des Basanga, situé à une cinquantaine de kilomètres au nord de Jadotville. Le village comptait 482 habitants au dernier recensement de 1956, soit 115 hommes, 137 femmes et 230 enfants. Nos observations sont relatives à la période s'étendant du mois d'août 1957 au mois de mars 1958.

1. Production de bière.

L'habitude existe à Pande de brasser d'assez grandes quantités de bière à la fois, de telle sorte qu'il est difficile de camoufler une fabrication. Dans ces conditions, nous avons pu observer tous les brassages réalisés pendant une semaine, prise en septembre, en novembre, en décembre, en janvier et en mars. Nous avons noté, chaque fois, la nature de la bière et la quantité fabriquée. La préparation s'effectuant dans des fûts cylindriques, il est facile de connaître le volume de boisson à partir des mesures du diamètre du récipient et de la hauteur du liquide.

Le *tableau I* donne les résultats que nous avons obtenus. On remarque immédiatement d'importantes variations dans la quantité de bière fabriquée suivant les époques de l'année. En septembre, fin de la saison sèche, la production est maximale: environ 2.000 litres sont brassés par semaine. En novembre, début de la saison des pluies, on constate une nette diminution de la quantité produite. La baisse de production se confirme et s'accroît durant les mois de décembre, janvier, février, mars.

C'est le manque de matières premières (maïs, sorgho), qui restreint pendant ces deux derniers mois le nombre de brassins. En novembre, décembre et janvier, c'est le manque de loisirs et d'énergie des ménagères,

(*) Nous employons indifféremment le terme bière et boisson fermentée.

entièrement occupées par les travaux agricoles (buttage, semis, binage), qui provoque cet abaissement. Il est courant, pendant la saison des pluies, d'entendre les hommes se plaindre du manque de boissons au village. Bien que nous n'ayons pas de données sur la période mai-août, nous pouvons supposer que la production de bière y atteint les valeurs de septembre, puisqu'aucun facteur ne semble devoir y empêcher une fabrication maximale.

2. Consommation de bière par habitant.

La consommation de bière se répartit entre les hommes et les femmes adultes, soit 252 personnes, les enfants ne buvant guère. Il faut encore retirer de ce chiffre les vieillards qui ne boivent plus, les malades qui ne supportent pas l'alcool et les protestants qui s'astreignent à l'abstinence.

Tableau I. — Nature et quantité des bières fabriquées à Pande en une semaine.

Date	Nature des bières	Nombre de brassages de chaque bière	Nombre de litres de chaque bière	Quantité totale de bière fabriquée (en litres par semaine)
Septembre	<i>Munkoyo</i> de maïs	14	1.596	1.960
	<i>Munkoyo</i> de sorgho	3	262	
	<i>Kibuku</i>	1	102	
Novembre	<i>Munkoyo</i> de maïs	11	864	1.224
	<i>Kibuku</i>	3	340	
	Hydromel	2	20	
Décembre	<i>Munkoyo</i> de maïs	7	735	1.230
	<i>Munkoyo</i> de sorgho	1	135	
	<i>Kibuku</i>	3	350	
	Hydromel	1	10	
Février	<i>Munkoyo</i> de maïs	6	652	992
	<i>Munkoyo</i> de sorgho	1	100	
	<i>Kibuku</i>	2	240	
Mars	<i>Munkoyo</i> de maïs	7	744	943
	<i>Kibuku</i>	2	199	

Nous évaluons à 10 le nombre de vieillards, à 30 les malades et à 30 les protestants; ce qui nous laisse une population effective d'environ 180 personnes pour consommer la totalité de la bière fabriquée.

Nous obtenons donc un chiffre de consommation de 11 litres par adulte par semaine, soit 1.4 litre par jour au mois de septembre. En février, l'indigène consomme 5,5 litres par semaine, soit 0,8 litre par jour.

Chaque semaine, des étrangers de passage à Pande participent à la dégustation des bières. Chaque semaine aussi, quelques autochtones s'absentent du village. Faute de pouvoir chiffrer avec précision ces fluctuations habituelles de la population, nous admettons dans nos calculs que la venue des étrangers compense à peu près le départ des villageois.

Notre évaluation suppose qu'hommes et femmes boivent des quantités égales de bière, ce qui est inexact. Pour vérifier ce point, nous avons posé en septembre, plus de 300 fois la question suivante aux villageois: « Pour combien de francs as-tu bu aujourd'hui » ? Connaissant la quantité de bière correspondant à 1 franc à Pande, nous pouvons évaluer de la sorte la consommation quotidienne individuelle. On sait que la quantité de bière correspondant à 1 fr., est de 400 à 450 cc aussi bien pour le *munkoyo* que pour le *kibuku*.

En tenant compte du fait qu'un volume de bière valant 1 franc est distribué gratuitement à tout nouveau consommateur (voir chapitre IV), les résultats de nos interrogatoires figurent au *tableau II* pour le mois de septembre.

Tableau II.

Consommateurs	Somme totale dépensée en F. C.	Valeur correspondant à la consumma- tion gratuite en F. C.
150 hommes	699	84
159 femmes	132	62

Les données du *tableau II*, pour le mois de septembre, nous fournissent les consommations individuelles journalières suivantes:

Tableau III. — Consommations individuelles journalières:

	<i>En F.C.</i>	<i>En litres</i>
Hommes	5,2	2,4
Femmes	1,2	0,5

On s'aperçoit ainsi que les hommes consomment en fait 80 % de la production totale de bière. La moyenne entre les consommations de l'homme et de la femme, (1,5 l), est pratiquement la même que celle obtenue plus haut en divisant la production hebdomadaire par le nombre d'adultes du village. Cette concordance prouve la validité de nos méthodes d'investigations et des données qui en découlent.

Le même interrogatoire réalisé en février donne des résultats similaires: c'est surtout la population masculine qui consomme les boissons fermentées comme l'indiquent les chiffres suivants:

Par homme et par jour: 1,3 litre;

Par femme et par jour: 0,3 litre.

Si nous estimons que la consommation de septembre est typique des six mois de saison sèche (avril à septembre) et que celle de février caractérise les six mois de saison des pluies (octobre à mars), la consommation annuelle serait pour:

L'homme: 677 litres;

La femme: 146 litres.

Ceci représente une consommation d'environ 70.000 litres de bière par an pour l'ensemble des adultes de Pande.

CHAPITRE II

LES TECHNIQUES DE PRÉPARATION DES BIÈRES

Nous ne pouvons pas décrire toutes les bières existant au Katanga. Leur nombre est considérable. Nous nous limiterons à la description des principales boissons fermentées dans la brousse de trois secteurs: ceux de Jadotville et de Kolwezi, où prédominent respectivement le *munkoyo* de maïs et le *munkoyo* d'éleusine, celui de Kamina, où c'est le vin de palme qui est le plus consommé. Nous décrirons ensuite quelques autres types de bières moins importants: l'hydromel, que l'on consomme à Jadotville et Kolwezi, à certaines époques de l'année, le *kibuku*, boisson assez répandue dans le secteur de Jadotville, les bières de fruits sauvages (Kolwezi et Kamina), les bières de tiges sucrées (Jadotville et Kamina), etc.

I. Le *munkoyo* de maïs.

a) Préparation du matériel de base.

Le *munkoyo* est une bière à base de farine d'un matériel amylicé: maïs (*Zea Mays* L.), sorgho (*Sorghum* sp.), éleusine (*Eleusine coracana* (L.) Gärt., manioc (*Manihot esculenta* Krantz), patates douces (*Ipomaea* sp.). La fabrication de la farine de maïs à partir des grains se réalise de la façon suivante:

Les grains sont pilés (*kusompa*) une première fois avec un peu de sable et un peu d'eau, de façon à en détacher la pelure (*fumba*), le tout est alors placé dans un panier plat (*musangua*); avec beaucoup d'adresse, la ménagère jette le contenu du panier en l'air en une mince lame de grains d'où le vent emporte les pelures et le sable. Les grains sont ensuite immergés dans l'eau d'un seau pendant 2-3 jours. Une fois retirés et nettoyés, on les pile (*kusansa*) de nouveau, de façon à les briser. Les morceaux de grains sont alors déposés sur une natte, afin de sécher au soleil. Une fois secs, ils sont successivement pilés (*kutua*) et tamisés de nombreuses fois. La farine obtenue va servir, dès le lendemain, à fabriquer le *munkoyo*; car, selon les indigènes, elle ne serait plus utilisable après plusieurs jours.

b) Récolte des racines d'*Eminia polyadenia* Hauman (1).

Les racines d'*Eminia* jouent un rôle très important dans la préparation du *munkoyo*. Leur récolte a lieu en des points bien déterminés et parfois fort éloignés de la brousse et s'effectue à la houe. L'indigène n'abat généralement pas la plante, mais se contente de prélever quelques-unes de ses racines.

c) Préparation de la bière.

Quinze kilogrammes de farine sont mélangés à un peu d'eau froide, de façon à obtenir une bouillie (*mpushi*). Cette dernière est transvasée dans de l'eau chaude. La bouillie est rendue onctueuse grâce à une agitation continue effectuée à l'aide d'une grande cuiller en bois (*mwiko*). On continue de chauffer jusqu'au moment où apparaissent les premières bulles. A ce moment la pâte est retirée du feu. Les racines (*mishiashi*) d'*Eminia polyadenia* Hauman sont désagrégées par battage (*kupuma*) avec un morceau de bois. Trois kilogrammes et demi de ces racines sont ajoutés à la pâte, ce qui a pour effet presque immédiat de la liquéfier. Les racines sont laissées dans le liquide pendant 6 ou 7 heures, puis retirées. Le liquide est ensuite tamisé grossièrement à l'aide d'un tamis en osier (*kasuso*) et transvasé enalebasses (*kileo*). Le brassage a permis de fabriquer 125 à 130 litres de bière qui peut être consommée telle quelle (*munkoyo* frais ou *mutobale*) ou après 2 à 4 jours de fermentation (*munkoyo* fort ou *mubile*).

Les préparatifs que nous venons de décrire sont des travaux réservés exclusivement aux femmes. Généralement, ils débutent très tôt le matin, vers 6 heures, et la mise enalebasses se termine vers 17 h. 30. Le travail n'est pas continu: pour le brassage, il est demandé à la ménagère environ 5 heures et demi de labeur. Nous ne comptons évidemment pas ici le temps requis pour l'extraction et la préparation de la farine, ni pour la récolte des racines de *munkoyo*, qui s'effectue parfois loin en brousse. Notons, au sujet de la récolte de ces racines, que ce travail est généralement réalisé par l'homme.

La fabrication du *munkoyo* laisse des résidus:

1. Les racines (*bikaka*) qui pourraient resservir (non vérifié);
2. Le résidu de tamisage (*manshi*), composé surtout de farine et qui est consommé par la ménagère et ses voisines.

(1) Le nom vernaculaire de cette plante, *munkoyo*, a donné le nom à la bière.

Certaines pratiques prenant leurs origines dans la superstition accompagnent souvent la fabrication. Dès le début de la préparation, des morceaux de charbon de bois (*dikala*) ou quelques rachis de maïs (*kipongele*) sont jetés dans la bouillie et lui donnent un aspect malpropre. Le but visé est de déguster les mauvais esprits qui voudraient voler ou souiller la bière.

d) *L'activité des racines de munkoyo.*

Il est intéressant de souligner l'effet spectaculaire des racines de la plante *munkoyo* qui liquéfient en 30 secondes 100 litres de pâte amylacée épaisse.

Cette plante ne semble pas avoir attiré beaucoup l'attention des observateurs antérieurs. De Wildeman (2) cite l'arbre (?) *munkayo* (?) dont les racines serviraient à faire une sorte de bière. Il décrit et nomme l'espèce: *Eminia Harmsiana* De Wild.

Dans deux enquêtes alimentaires réalisées en Rhodésie (1954), Betty Preston Thomson (10) signale la préparation de la bière *munkoyo* à partir des racines d'*Eminia Holubii*. La même année, Poot (8) décrit la fabrication de cette bière. Cet auteur présente un certain nombre d'observations et de suppositions qui nous paraissent erronées; nous en relevons les principales:

— Il prétend que l'on *cuit* la pâte amylacée avant d'y ajouter les racines (page 386), alors qu'il s'agit d'un chauffage modéré;

Il signale la préparation d'un *munkoyo* à base de farine de grains de maïs germés (pages 387 et 388). Nous décrivons aussi des bières à base de grains germés (voir *kibuku*, p. 23), mais jamais on n'y utilise les racines de *munkoyo* puisque leur action remplace justement celle de la germination;

— Cet auteur n'a pas noté la partie la plus spectaculaire de la fabrication, notamment la liquéfaction immédiate de la pâte sous l'effet des racines;

— Poot imagine que « la racine fond » dans le mélange, alors que l'on en retire les racines après quelques heures d'action;

— Il invoque des germes apportés par les racines pour *expliquer l'hydrolyse de l'amidon* (page 388) et en même temps rejette l'idée d'une action enzymatique des racines parce « qu'une amylase éventuelle ne peut qu'hydrolyser l'amidon, mais non produire de l'alcool et du gaz ». Poot semble donc confondre deux phénomènes très différents: l'hydrolyse de l'amidon par un enzyme et la fermentation alcoolique du glucose par les levures.

Grévisse (4) décrit, lui aussi, les diverses opérations de la préparation du *munkoyo*, mais il ne parle pas de la liquéfaction de la bouillie produite par les racines.

Dans la flore du Congo belge et du Ruanda-Urundi (6), on trouve au genre *Eminia* deux espèces: *polyadenia* Hauman et *Harmsiana* DeWild et une sous-espèce: *intermedia*. Il y est noté sans autre précision que les racines de chacune servent à la fabrication d'une bière.

De leur côté, les indigènes katangais distinguent plusieurs variétés d'après la grosseur et la couleur intérieure des racines. Ainsi le *munkoyo wa mulaba* possède de grosses racines blanches, tandis que le *munkoyo wa kalunge* possède de fines racines jaunes. Nous avons encore trouvé une troisième variété: le *munkoyo wa Kisabanyunda*. Toutes servent à la fabrication de bière, mais la variété *mulaba* est généralement préférée aux autres. Ces 3 variétés correspondent aux *Eminia Polyadenia* Hauman, *E. Holubii* (Hemol) Taub et *E. antennulifera* Taub. Ces deux dernières n'avaient pas encore été signalées au Congo Belge.

D'autre part, des boutures que nous avons rapportées et cultivées dans les serres du Jardin botanique ont pu être déterminées: elles appartiennent toutes à l'espèce *Eminia polyadenia* Hauman. Cette papilionacée possède des tiges dressées pouvant atteindre plus d'un mètre de haut. Ses feuilles sont trifoliolées.

L'activité amylolytique spectaculaire des racines d'*Eminia*, doit être attribuée, selon nous, à l'action d'un complexe enzymatique et qui remplacerait l'habituel maltage que doivent subir les grains de céréales destinés à la fabrication de bière. Le *kibuku* — boisson de maïs et sorgho germés (voir p. 23) — ne requiert pas, en effet, l'utilisation des racines de *munkoyo*.

2. Les autres *munkoyo*.

Ils ne diffèrent du *munkoyo* de maïs que par le matériel de base: farine de sorgho, d'éléusine, de manioc ou de patates douces. On observe rarement la consommation de *munkoyo* de manioc ou de patates douces. Le premier est très peu apprécié des indigènes et l'habitude de préparer le second se perd de plus en plus.

Quelle que soit l'origine de la farine, la fabrication de la bière est rigoureusement identique à celle décrite pour le maïs. Il nous suffira donc d'exposer la préparation des autres matériels de base.

a) Préparation de la farine de sorgho.

Les grains de sorgho (*mebele*) sont pilés (*kusompa*), de façon à les séparer de leurs pelures. Celles-ci sont éliminées par lavage à l'eau (*kovua*) et les grains sont mis à sécher sur natte. Ils sont ensuite successivement pilés (*kutua*) et tamisés plusieurs fois, de façon à en obtenir la farine (*bunga*).

b) *Préparation de la farine d'éleusine.*

Les grains d'éleusine (*bulesi*) sont broyés entre deux pierres: l'inférieure se nomme *dibue* et est fixée au sol; la supérieure, *pandishi*, est plus petite et manœuvrée par une personne accroupie.

c) *Préparation de la farine de manioc.*

Les carottes de manioc récoltées sont écorcées sur le champ, puis transportées jusqu'au marécage voisin, où elles sont déposées dans l'eau aux fins de roussage. Elles sont retirées trois jours plus tard et mises à sécher sur un lit de paille. Lorsqu'une partie de l'eau qu'elles contenaient est évaporée, les carottes, encore molles, sont désagrégées à la main en fragments, tandis que la partie fibreuse est éliminée. Les fragments de carottes sont de nouveau mis à sécher, puis, une fois parfaitement secs, passés au pilonnage plusieurs fois afin d'en retirer la farine.

d) *Préparation de la farine de patates douces.*

Les patates douces (*kandolo*), d'abord pelées, sont découpées en tranches et mises à sécher pendant 3 ou 4 jours. Ensuite, elles sont passées au pilon pour en obtenir une farine de couleur brun-clair.

3. Le vin de palme (*malefu*) (1).

Le vin de palme n'est autre que la sève fermentée du palmier à huile (*Elaeis guineensis* L.).

Le R. P. Vanderyst a répertorié les divers modes de production du vin de palme de la façon suivante :

A. Sans tuer l'*Elaeis* :

a) En coupant les pédoncules des régimes mâles ;

b) En faisant une incision dans le tronc ;

A la base d'un régime mâle ;

A la base d'une feuille.

B. En abattant l'arbre et en incisant le bourgeon terminal.

(1) Dans ce paragraphe, les noms vernaculaires sont en *Kiluba*, alors que partout ailleurs, ils sont en *Kisanga*.

Les populations des environs de Kamina ne possédant pas de bons grimpeurs aux arbres, sont dans l'obligation d'abattre l'*Elaeis* pour lui soutirer sa sève. L'abattage est un travail long et pénible réservé aux hommes. Trois « bûcherons » sont requis pendant près de deux heures pour venir à bout d'un palmier de 25 ans. La difficulté vient de ce que l'on creuse une tranchée tout autour et sous le pied de l'arbre, de sorte que le tronc ne soit plus retenu au sol que par quelques racines adventives. Une simple poussée de la main suffit alors à l'ébranler et l'arbre s'écrase dans un fracas de feuilles brisées. On cherche autant que possible à abattre le palmier dans le sens de la pente, si faible soit-elle, afin que la tête soit plus basse que le pied. L'arbre est abandonné tel quel pendant plusieurs jours (1, 3, 4, 8, 11). Ceci est nécessaire, suivant les indigènes, si l'on veut obtenir un bon écoulement de la sève par la suite. Après cela, le tronc est nettoyé, c'est-à-dire débarrassé des feuilles, pétioles et inflorescences jusqu'au moment où le bourgeon terminal (*mudio*) est mis à nu et sectionné à une vingtaine de cm. de son sommet. Tout ce travail exige encore le labeur de deux hommes pendant 1 heure 30.

La section du bourgeon est oblique et sans bavure; chaque jour, elle est ravivée par l'enlèvement d'une mince pellicule superficielle. Dès qu'il est sectionné, le bourgeon terminal se met à suinter une sève blanchâtre et sucrée. Celle-ci est recueillie dans un pot de terre cuite (*kisuku*). Afin de préserver le liquide des poussières et des insectes, on entoure le bourgeon terminal et le *kisuku* d'un manchon d'écorce (*matanda*) et de feuilles de palmier (*malala*) soutenu par 2 ou 3 lanières (*sele*) flexibles fixées sous le pot et dans le bourgeon.

Chaque jour, pendant plus de 20 jours, l'indigène vient récolter la sève écoulée. Déjà la fermentation agit dans le *kisuku*, car une mousse (*bifululu*) blanche immaculée surmonte le liquide.

A l'aide d'une feuille, on écume le vin et on le débarrasse des impuretés qui y sont tombées. Et l'on savoure, à l'ombre de la palmeraie, la fraîcheur de ce breuvage pétillant; à moins qu'on ne désire le boire très alcoolisé, auquel cas on l'entrepouse quelques jours avant de le consommer.

De nombreuses pratiques superstitieuses sont liées au vin de palme. Au moment où l'arbre s'abat, un des travailleurs noue rapidement les quelques racines adventives qui restaient les seules attaches du tronc au sol. « Cela empêche la sève de couler par les racines » disent les indigènes.

Une autre croyance empêche une femme, à l'époque de ses règles, d'approcher du palmier abattu, de pénétrer dans une case où se trouve du vin et de boire le *malevu*. Elle le rendrait impropre à toute consommation.

L'abattage de palmiers du genre *Elaeis*, en vue d'en extraire le vin de palme, est interdit sur tout le territoire du Congo par le décret du 19 juillet 1926. Les infractions sont punies de deux mois de servitude pénale ou de deux mille francs d'amende. La destruction des palmiers se fait donc en secret dans les palmeraies peu accessibles à la surveillance de l'Administration. Bien que le nombre d'*Elaeis* abattus soit considérable, ceci ne doit pas nous émouvoir outre mesure, car, comme l'indiquait le R.P. Vanderyst, (12), « L'indigène, à tout âge, est un conservateur de jeunes *Elaeis*. Ce qui le prouve à toute évidence, c'est l'existence des palmeraies. »

La bouteille de vin de palme (environ 3/4 de litre), est vendue 3 ou 4 francs C. dans les villas ou est transportée clandestinement dans la cité de Kamina, où elle se vend 6 ou 7 francs C.

4. L'Hydromel (*mbote*).

L'indigène récolte en brousse le *dipuma*, c'est-à-dire les alvéoles cireuses (*biso*) contenant le miel (*buki*). Le *dipuma* est plongé dans de l'eau chaude et pressé (*kufina*) avec les mains afin d'en extraire le miel. Le jus brun-foncé obtenu est tamisé afin de séparer la bière (*mbote*) des déchets de cire (*bipopo*). Si le liquide est trop sucré, on y ajoute de l'eau. La difficulté de la préparation réside dans le dosage de la teneur en sucre. Finalement, la bière est mise enalebasses, que l'on place au soleil afin d'activer la fermentation. Cette dernière provoque une abondante mousse verdâtre (*kafulo*). Après 1 à 3 jours, le breuvage est consommé. Il faut noter que toute la préparation se fait au milieu de centaines d'abeilles bourdonnantes attirées par le goût du miel. Nombreuses d'ailleurs sont celles qui se noient dans le *mbote*, lui donnant un aspect peu appétissant.

Bien que les femmes participent parfois à sa préparation, l'hydromel est surtout fabriqué par les hommes qui procèdent aussi à la récolte du miel. Le *mbote* est bu de septembre à janvier. A Pande, le verre de 200 cc se vend 1 franc C.

5. Le Kibuku des Basanga.

Il est utile de préciser *kibuku des Basanga*, car il existe plusieurs sortes de *kibuku* propres à d'autres races (voir page 26).

La préparation de cette bière est assez complexe et s'étend sur une période de 12 jours. Pour faciliter la description, nous allons dater chaque opération.

Le 4 mars. — 5 kg de grains de maïs (*mataba*) sont plongés dans de l'eau;

Le 6 mars. — Ces grains sont retirés de l'eau et mis à germer (*mimena ya mataba*) dans un panier rond (*kiabo*) recouvert de feuilles de bananier;

Le 10 mars. — 4,8 kg de grains de sorgho (*mebele*) sont plongés dans de l'eau. On y ajoute des cendres de bois, afin que les graines ne deviennent pas gluantes;

Le 11 mars. — Le sorgho est retiré de l'eau et mis à germer (*mimena ya mebele*) en panier;

— 3,6 kg de pelures de grains de maïs (*fumba*) sont pilés et, après tamisage, donnent une farine;

— 1,7 kg de maïs germé sont pilés et réduits en farine;

— Les deux farines obtenues sont mélangées (*kushimpula*) dans un fût avec environ 10 litres d'eau. La bouillie obtenue est nommée *mushimpulo*;

Le 13 mars. — Le *mushimpulo* est mis au feu (*kutekulula*) pendant 4 heures environ. Par perte d'eau, il devient épais et jaunâtre. Il est mis à refroidir et à fermenter;

Le 14 mars. — 2,3 kg de farine de maïs et de sorgho germés sont fabriqués au pilon;

— Cette farine est ajoutée (*kupupila*) au *mushimpulo*. On mélange à l'aide du *mwiko*;

Le 15 mars. — Le *mushimpulo* est le siège d'une intense fermentation qui provoque une mousse abondante;

— Ce qui reste du maïs et du sorgho germés est pilé. A l'aide de la farine obtenue, on réalise une bouillie (*muwula*) avec de l'eau froide;

— Le *muwula* mélangé à de l'eau chaude donne une nouvelle bouillie appelée *mpushi*;

— Le *mpushi* est mis à refroidir. Ensuite, très tard dans la soirée, vers 21 heures, il est mélangé au *mushimpulo* qui joue le rôle de levain. A minuit, le mélange est tamisé. On en obtient environ 80 litres.

Le 16 mars. — Le *kibuku* est prêt à être consommé. Il ne peut attendre le lendemain; bien souvent même, il est bu pendant la matinée et entièrement consommé avant 14 heures.

La préparation de cette bière exige environ 8 heures de travail continu de la ménagère. En général, celle-ci s'arrange pour que le jour de la consommation soit un dimanche. Tout le maïs et le sorgho germés rentrent dans la composition du breuvage final, mais il existe néanmoins un déchet de pilonnage d'environ 1 kg, qui est consommé sous forme de semoule.

Notons encore que cette bière possède certaines ressemblances avec le *busele* décrit par Grévisse (4).

6. Les boissons de fruits sauvages.

On devrait plutôt dire « limonades de fruits sauvages », car souvent on les consomme avant que la fermentation n'ait commencé. Sous cette forme sucrée, elles sont très appréciées des enfants et des vieillards.

Un kg environ de fruits de *Parinari Mobola* Oliv. (*mupundu* ou *kia*) sont triturés avec les mains ou pilés; on y ajoute environ 3 litres 1/2 d'eau. Le péricarpe désagrégué donne un jus jaunâtre, très sucré, qui peut être consommé de suite ou après 3-4 jours de fermentation.

Cette boisson est généralement préparée par les femmes, mais l'on voit parfois des hommes y participer. L'époque de la fabrication dépend de la maturation des fruits, qui se produit en août-septembre-octobre. Le *Parinari Mobola* Oliv. est catalogué par P. Staner (9) parmi les plantes congolaises à fruits comestibles.

Les fruits d'un autre arbre, *mufungo*, servent aussi de matériel de base à une boisson dont la préparation est identique à la précédente, mais dont la couleur est rose-violet. Nous ignorons actuellement le nom scientifique du *mufungo*.

7. La bière de tige de maïs.

On sait que les tiges du maïs arrivé presque à maturité (mois de février-mars) sont sucrées. Un kg et demi de ces tiges sont pelées et découpées en morceaux de 15-20 cm de longueur. Ces fragments sont pilés et plongés dans 2 ou 3 litres d'eau chaude. Quand le jus est suffisamment sucré, on tamise.

Cette boisson peut être bue telle quelle ou après fermentation. Elle est surtout appréciée par les enfants et les vieillards. Cette préparation est réservée aux femmes. Dans la région de Kamina, cette bière porte le nom de *makulo*.

8. Le Kinseke.

Le déchet de pilonnage du maïs (*seke ya mataba*) cuit à l'eau, donne une semoule nommée *makoko*.

Des racines de *munkoyo* sont plongées dans cette semoule, que l'on consomme les jours suivants et qui est plus ou moins alcoolisée suivant la durée de la fermentation. Il existe encore d'autres bières au Haut-Katanga, notamment le *kibuku* des Baluba (à base de maïs germé et de farine de manioc) et le *kalonji* des Kasai (à base de haricots) dans la région de Kamina; le *kipinde* (à base de sorgho germé) est fabriqué dans la région de Jadotville.

Les agents de la fermentation.

La plupart des bières (*munkoyo*, vin de palme, hydromel), dont nous venons de décrire la préparation, se fabriquent de nombreuses fois, toujours dans les mêmes récipients. Ceux-ci n'étant pas nettoyés, il subsiste, plus ou moins séchés sur leurs parois, des restes de levain qui ont tôt fait de provoquer la fermentation des nouveaux brassins. C'est ce qui se passe dans les calebasses où l'on conserve le *munkoyo* et l'hydromel et dans les pots où l'on recueille le vin de palme. Dans d'autres cas, la fermentation peut être provoquée par l'indigène. Ainsi trois ou quatre palmes sont en général placées dans le pot de terre cuite où s'écoule la sève du palmier. Selon les villageois, elles amorceraient la fermentation. Elles sont retirées quand la quantité de levure est suffisante. De même, quand une calebasse neuve est utilisée pour contenir l'hydromel, l'indigène y place un mélange de *munkoyo* avec du couvin d'abeilles dans le but d'amorcer la fermentation. Pour le *kibuku*, c'est le mélange appelé *mushimpulo* qui constitue le levain.

Les fermentations auxquelles nous assistons sont donc certainement complexes.

Pour les bières de fruits sauvages, nous ne devons pas oublier que des levures peuvent exister à la surface des fruits eux-mêmes. Les racines d'*Eminia* que l'on plonge dans le *munkoyo*, peuvent aussi véhiculer des levures. Enfin, un ensemencement naturel par les germes de l'air peut intervenir.

Nous avons ainsi isolé du *munkoyo* et du *kibuku*, des levures et des champignons apparentés, de plusieurs types :

a) *Hansenula anomala* (Hansen) H. et P. Sydow, qui est une levure vraie fermentant le glucose, le galactose, le saccharose, le maltose et le raffinose

(pour un tiers). C'est un genre proche des *Saccharomyces* dont on connaît le rôle dans la fermentation des bières et des vins.

b) Trois autres organismes *Candida Krusei* (Cast) Berkhout, *Trichosporon cutaneum* (De Beurm., Gougerot et Vaucher) Ota et *Geotrichum candidum* Link (= *Oospora lactis*) ont également été retirés des bières. Tous les trois appartiennent à la famille des *Candidoïdeae* ⁽¹⁾ proche des levures.

Candida Krusei fermente le glucose, *Geotrichum candidum* est capable, lui, d'utiliser le glucose et le galactose.

Notons ici, pour information, que certaines espèces du genre *Candida*, sont responsables de la fermentation de la gueuze (bière belge), ainsi que de certaines bières anglaises (Stout et Pale-ale).

⁽¹⁾ Les *Candidoïdeae* vivent sous la forme unicellulaire bourgeonnante, mais peuvent organiser aussi un *Pseudomycelium* et parfois même un vrai *Mycelium* (*Geotrichum*). Ces champignons produisent des blastospores et des arthrospores.

CHAPITRE III

LA VALEUR NUTRITIVE DES BIÈRES

Les principales bières rencontrées ont été soumises à l'analyse chimique. Cette dernière comprenait :

1. La mesure du résidu sec à 105°C ;
2. Le dosage de l'alcool;
3. Le calcul de la quantité d'eau, en soustrayant les 2 données précédentes de la quantité initiale;
4. Le dosage des sucres totaux par la méthode de Felhing, après hydrolyse d'environ 10 heures;
5. Le dosage des sucres réducteurs par la méthode de Felhing;
6. Le dosage des graisses extraites par un solvant organique;
7. Le dosage de l'azote par la méthode de Kjeldalh;
8. Le calcul des protéines à partir de la teneur en N ($\text{N} \times 6,25$);
9. Le dosage du phosphore par la méthode au méthol (p-méthylamino-phénol sulfate) ou par la méthode de Briggs et Bell-Doisy;
- 10 Le dosage du calcium par la méthode au permanganate;
11. Le dosage du fer par la méthode à la phénanthroline;
12. La mesure du pH au pH-mètre de Beckman;
13. Le dosage des vitamines C et B₁ par méthodes chimiques; le dosage, des vitamines B₂, B₆, B₁₂ et de l'acide pantothénique par techniques microbiologiques.

Tableau IV. — Compositions de boissons fermentées indigènes.

		Bières de céréales				Vin de palme	Hydro- mel
		<i>Munkoyo</i> de maïs	<i>Munkoyo</i> de sorgho	<i>Munkoyo</i> d'éléusine	<i>Kibuku</i> (maïs + sorgho germés)		
en g	Mat.sèc.	3,92	3,720	6,830	3,520	3,830	4,580
% cc	Alcool	2,40	1,800	2,300	2,000	5,000	1,500
frais	Eau	93,68	94,480	90,870	94,480	91,170	93,92
en g	Suc.tot. (en gluc.)	0,75	0,850	0,720	0,600	—	2,460
% cc	Suc.réd. (id.)	0,56	0,494	0,580	0,500	0,283	1,137
frais	Graisses	0,22	0,105	0,163	0,097	0,213	0,160
	Protéines	0,58	0,503	0,670	0,687	0,908	0,218
en mg	Azote	93,36	80,440	107,280	109,880	145,360	34,920
% cc	Phosph.	3,64	6,970	16,530	12,680	4,970	4,130
frais	Calcium	1,45	0,780	8,280	5,420	—	2,330
	Fer	1,37	0,630	2,730	4,500	0,110	0,460
	Ph	3,10	3,40	3,70	4,00	4,200	3,20

Ces analyses ont été effectuées sur des échantillons récoltés sur place, transportés rapidement au laboratoire et traités de la façon suivante: pour la vitamine C: une portion est acidifiée au pH I; pour les vitamines du groupe B, une autre partie a été autoclavée pendant 10 minutes à 0,7 kg. Ces échantillons ont été expédiés par avion en bouteilles isothermiques réfrigérées au laboratoire du Ceria (Bruxelles).

Les résultats sont rassemblés dans les *tableaux* IV et V. Ils donnent une idée assez exacte de la composition des bières, car la plupart sont des moyennes réalisées sur plusieurs échantillons différents: la diversité des brassages est telle que jamais deux bières ne sont strictement identiques.

Tableau V. — Teneur en vitamines de quelques bières.

Vitamines	<i>Munkoyo</i> de maïs	<i>Munkoyo</i> de sorgho	<i>Kibuku</i>
Vitamine C mg/100cc	0,80	1,40	—
Vitamine B ₁ libre γ/100cc	5,67	4,06	—
(Thiamine) totale γ/100cc	6,99	4,00	12.500 ?
Vitamine B ₂ (Riboflavine) γ/100cc	33,80	73,40	50,40
Vitamine B ₆ (Pyridoxine) γ/100cc	14,00	7,30	—
Vitamine B ₁₂ γ/100cc	2,080 (!) 0,076	25,00 (!)	0,35
Acide panthoténique			
Libre γ/100cc	16,60	132,30	—
Total γ, 100cc	88,50	170,90	

En combinant les données des *tableaux IV* et *V* et celles du *tableau III*, on peut tirer les conclusions suivantes concernant la composition et la valeur nutritive des boissons fermentées. Les valeurs que nous renseignons pour les différentes substances envisagées ne peuvent être qu'approximatives étant donné la variabilité des différents brassins et les variations de consommation aux différentes saisons.

Pour le calcul des apports réalisés par les boissons, il sera fait usage pour chaque composant analysé d'une valeur moyenne approchée, choisie pour les bières de céréales, qui représentent dans l'ensemble de la consommation des boissons fermentées la partie la plus importante dans la région de Jadotville (voir chap. I). Les données de consommation des *tableaux II* et *III*, se rapportent d'ailleurs uniquement à cette catégorie.

Eu égard au fait que la femme boit beaucoup moins de bière que l'homme (environ le quart), les sexes doivent être considérés séparément.

1. Le résidu sec de ces bières est important: il représente 4 à 6,5 % du volume frais. Ces bières sont troubles. Une expérience de décantation à l'aide du cône d'Immhof nous a montré qu'un litre de *munkoyo* de maïs dépose 640 cc en 24 heures.

2. La teneur de ces liquides en sucres totaux est assez faible et assez uniforme: La concentration varie de 0,6 à 0,85 g %. La transformation en alcool des hydrates de carbone solubles est donc réalisée d'une façon satisfaisante. L'hydromel accuse une teneur nettement plus élevée en sucres totaux et réducteurs, ce qui est confirmé par sa saveur plus douce.

3. Il est compréhensible que ces boissons soient très pauvres en graisses tout comme les matières premières utilisées dans leur fabrication.

4. La teneur moyenne approximative en protéines des bières de céréales peut être acceptée comme 0,5 g %. Il en résulte que l'homme, ayant une consommation journalière moyenne de 1,8 l environ pendant toute l'année, prend 9 g de protéines à cette source. D'après les fluctuations mensuelles dans la consommation de bière, l'apport de protéines varie donc entre 12 g par jour en saison sèche et 6,5 g en saison de pluies. Cet apport de 12 g de protéines pour les boissons fermentées, n'est pas négligeable pour la saison sèche: on peut estimer en effet qu'il représente au moins 20 à 25 % de l'apport protéique total pour l'homme, si on *admet* que celui-ci a une ration de plus ou moins 60 g de protéines par jour. Toutefois, ces chiffres de pourcen-

tage ne peuvent constituer qu'une donnée très approximative en l'absence de valeurs précises: les résultats d'une vaste enquête alimentaire approfondie ayant pour objet la disponibilité et la consommation azotées sont actuellement en voie de dépouillement.

La femme ne tire qu'environ 2 g de protéines par jour de la bière vu sa consommation annuelle moyenne de 400 cc par jour.

Le vin de palme, fabriqué à partir d'une sève, est donc nettement plus riche en protéines. L'hydromel est évidemment beaucoup plus pauvre.

5. La teneur moyenne en alcool des bières de céréales peut être admise à environ 2 g par 100 cc au maximum; l'absorption quotidienne de l'homme sera donc de plus ou moins 36 g, augmentant à plus ou moins 50 g pendant la saison sèche et diminuant à plus ou moins 26 g en saison des pluies. La femme prend 8 à 10 g par jour.

Le vin de palme est nettement plus alcoolisé (5 g %).

6. La conséquence de la faible teneur des bières en sucres, protéines, graisses et alcool, est une valeur calorique peu élevée. En effet, 100 cc représentent à peu près 12-15 cal. L'apport énergétique par la boisson varie donc chez l'homme entre 150 et 350 cal par jour avec une moyenne de 230. Ceci représente environ 10 % de la dépense énergétique moyenne.

Pour les femmes, les boissons constituent un apport calorique tout à fait négligeable.

La faible valeur calorique des bières de céréales peut paraître étonnante en regard de l'importance de la matière première utilisée: en effet, la valeur énergétique de la bière telle que nous l'avons déterminée ne représente qu'environ 30 % de celle du poids de la farine employée au départ: au point de vue calorique, le rendement peut donc paraître assez médiocre. Il ne faut pourtant pas perdre de vue que les résidus non hydrolysés ne sont pas perdus mais sont séparés (*manshi*) et consommés par les femmes comme « semoule ». On peut donc dire que sous une forme ou une autre, la matière première servant à la fabrication de la bière, arrive à la consommation et que les pertes doivent être peu importantes.

Ce qui précède permet de conclure que les boissons fermentées à base de céréales considérées du point de vue calorique, ne constituent pas un aliment au sens habituel du mot, susceptible d'influencer quantitativement

l'ingestion de la ration de base. C'est là un avantage indiscutable au point de vue nutritionnel par rapport à des boissons plus « riches ».

7. Ces bières sont généralement très acides: leur pH varie entre 3 et 4.

8. L'apport minéral en Ca, P et Fe est intéressant à considérer.

a) Pour ce qui concerne le Ca, l'apport est minime pour les hommes (plus ou moins 36 mg par jour, plus ou moins 7 % de l'apport total) et, *a fortiori*, négligeable pour les femmes. Les matières premières utilisées ne sont évidemment pas des sources très importantes de Ca. Le cas du *munkoyo* d'éleusine est un peu particulier: la teneur de cette boisson en Ca est beaucoup plus élevée que toutes les autres. La farine d'éleusine est en effet la seule obtenue par broyage entre deux pierres, et une contamination de cette origine est donc très probable.

b) La quantité de P contenue dans les bières est nettement supérieure (2 à 3 fois) à celle du Ca, reflétant en cela les teneurs de ces 2 éléments dans les grains; l'abondance du P dans le règne végétal et par conséquent dans le régime des indigènes de la région, réduit l'intérêt que les boissons fermentées pourraient constituer comme fournisseurs de P.

c) La teneur en Fe des boissons étudiées est plus intéressante à considérer. En raison du taux moyen de 2,3 mg de Fe/100 cc, la consommation moyenne de bière fournit à l'homme environ 42 mg de Fe par jour, avec des extrêmes de 55 à 30 mg. La femme tire de la bière environ 10 mg de Fe par jour. Ces boissons fermentées ont donc à ce point de vue une grande valeur nutritive puisqu'elles fournissent une quantité égale ou supérieure au besoin quotidien de Fe, estimé à 10-15 mg. La teneur relativement élevée en Fe des bières étudiées est due très vraisemblablement à une contamination par les récipients servant à leur fabrication: le pH nettement acide du liquide réalise une attaque des fûts en fer. Un apport en fer de cet ordre peut présenter un réel intérêt dans une région où les causes d'anémie sont diverses: malaria, ankylostomiase, bilharziose.

9. Au point de vue des vitamines, seuls l'acide ascorbique et quelques-unes des vitamines du groupe B ont retenu notre attention.

a) Les bières ne sont pas très riches en vitamines C puisqu'elles ne contiennent qu'environ 1 mg/100 cc. L'apport par la bière n'est pas négligea-

ble, mais faible pour la femme; l'acide ascorbique figure certainement largement dans les produits de grignotage de l'indigène (fruits de forêt et de savane);

b) La vitamine B₁ ou thiamine figure pour 5 γ /100cc. L'homme prend donc environ 90 à 100 γ par jour de cette substance et la femme 20 γ seulement. La valeur de 12.500 γ /100 cc trouvée provient d'un échantillon infecté. La quantité recommandée est de 1.000 γ /jour;

c) La riboflavine ou vitamine B₂, se trouve à plus ou moins 50 γ /100 cc en moyenne. L'apport est donc de plus ou moins 900 γ /jour pour l'homme et de 200 γ /jour pour la femme. Si la quantité de riboflavine recommandée est de 2 mg/jour, on voit que la quantité fournie par les bières représente une proportion très importante, pour l'homme tout au moins;

d) La pyridoxine (vitamine B₆) est amplement fournie, à raison de 180 γ /jour pour l'homme et de 40 γ /jour pour la femme; les besoins ne sont pas connus;

e) L'élément le plus intéressant au point de vue vitaminique, paraît être la vitamine B₁₂ qui est consommée à raison de 1,8 γ /jour par l'homme et de 0,5 γ /jour par la femme. Il n'y a pas de doute que ces quantités rentrent dans la gamme des doses protectrices contre l'anémie pernicieuse. Ceci est intéressant pour des populations dont le régime est pauvre en protéines d'origine animale;

f) L'acide pantothénique, de grande importance biologique est présent en quantité notable. Les besoins ne sont pas connus.

CHAPITRE IV

L'IMPORTANCE DES BIÈRES DANS L'EMPLOI DU TEMPS ET DANS LE BUDGET DES INDIGÈNES.

Seul le village de Pande a été étudié. Au cours de l'année, les ménagères préparent des brassins à tour de rôle. La rentrée des calebasses remplies de bière dans la hutte (*nzubo*) termine la fabrication.

C'est dans la fraîcheur de la case que se fera donc la dégustation. Chaque maison devient, à tour de rôle, un cabaret pendant quelques jours. Dans un coin de la pièce rectangulaire, la ménagère, assise au milieu de ses calebasses, distribue la boisson et reçoit en retour les précieuses pièces de monnaie (*franga*). Elle se sert de calebasses de formes diverses pour la distribution: *lukombo* en forme de louche et *lubaya* en forme de demi-sphère servant de bol. Les consommateurs, surtout des hommes, serrés les uns contre les autres, sont assis le long des murs, laissant au centre de la pièce, un espace libre où pourront évoluer les danseurs éventuels. L'animation est grande: discussions interminables, rires, disputes, chants, sont mêlés aux airs de guitare et aux « bruits de bouteille » (tintements d'un objet métallique contre une bouteille vide).

Nous avons noté à Pande, un fait très spécial: lorsqu'un consommateur entre au cabaret improvisé, on lui offre gratuitement une quantité de *munkoyo* ou de *kibuku* de la valeur d'un franc afin qu'il puisse goûter (*kunviujya*) la bière avant de la consommer. Nous n'avons rien trouvé de semblable à Bunkeya, à Mwilu, à Musokatanda, à Kamina, etc.

Autrefois, hommes et femmes buvaient séparément et la femme devait s'agenouiller devant l'homme pour lui présenter une calabasse de bière. Actuellement, ces coutumes se perdent petit à petit.

La fabrication et la consommation des boissons fermentées marquent profondément divers aspects de la vie du village, aussi bien pour les hommes que pour les femmes.

1. Les bières dans l'emploi du temps des indigènes.

Les hommes passent une grande partie de leurs loisirs dans les huttes transformées en cabarets temporaires, mais là ne s'arrête pas le temps qu'ils consacrent aux bières. C'est eux qui récoltent en brousse le miel et les racines d'*Eminia* servant à préparer respectivement l'hydromel et le *munkoyo*. C'est eux encore qui fabriquent et vendent l'hydromel (voir Chap. II).

Quant aux femmes, elles sont chargées de la fabrication et de la vente des boissons de céréales. La préparation de la farine de maïs ou de sorgho, matériel de base de ces bières, leur incombe aussi. Lorsqu'on connaît le grand nombre de brassages qui ont lieu à Pande en une semaine (*tableau I*) et le temps exigé par chacun d'eux (voir Chap. II), on peut se rendre compte aisément du nombre considérable d'heures qu'elles doivent y consacrer.

2. La fabrication de bières en tant que revenu pour la femme.

Le bénéfice de la production des boissons fermentées (*munkoyo*, *kibuku*) revient en grande partie à la femme. Ce bénéfice est important et il constitue d'ailleurs pour elle la principale source d'argent: le *tableau VI*, montre la valeur de ce revenu dans le budget de 10 ménagères pendant 7 mois (de septembre à mars). Dans 8 cas, il est supérieur à 50 % du revenu global.

Tableau VI. — La vente de bières dans le revenu des femmes.

Femme	Recettes provenant de la vente de bière pendant 7 mois en francs C.	Recettes totales pendant 7 mois en francs C.	$\frac{\text{Recettes-bières}}{\text{Recettes totales}} \times 100$ %
1	545	717	76
2	285	485	59
3	1.884	2.532	74
4	210	213	100
5	514	962	53
6	472	826	57
7	60	360	17
8	0	91	0
9	439	619	71
10	347	371	93

moyenne: 60 %

Nous avons écarté systématiquement les femmes de ménage protestantes, celles qui sont malades ou trop âgées, parce qu'elles ne fabriquent pas de bière. De même, celles dont le mari exerce une profession non coutumière à revenus importants (commerçant, maraîcher, maçon au service de l'administration): Ces femmes ne brassent plus, car elles n'ont nul besoin d'argent.

Les budgets présentés dans les *tableaux* VI, VII et VIII sont calculés d'après les déclarations recueillies journellement chez les indigènes. Ceux-ci s'absentant assez souvent du village, nos chiffres constituent donc une approximation.

3. La consommation de bière en tant que dépense pour l'homme et la femme.

Nous évaluons cette dépense de la même manière que dans le paragraphe précédent. Les *tableaux* VII et VIII donnent respectivement les chiffres obtenus pour 10 hommes et 10 femmes.

Chez les hommes, cette dépense est forte: elle représente 20 à 35 % des dépenses totales dans 7 cas sur 10. Dans deux autres cas, elle est même supérieure, et atteint 49 et 75 %.

Son importance est beaucoup moindre chez les femmes, pour lesquelles elle est de 0 à 5 % dans 8 cas sur 10.

Tableau VII. — La consommation de bières dans les dépenses de l'homme.

Homme	Dépenses provenant de la consommation de bière pendant 7 mois en francs C.	Dépenses totales pendant 7 mois en francs C.	$\frac{\text{Dépenses - bières}}{\text{Dépenses totales}} \times 100$ %
1	414	2.104	20
2	54	513	11
3	833	1707	49
4	239	715	33
5	362	1.239	29
6	1.953	2.589	75
7	185	772	24
8	198	952	21
9	389	1.396	28
10	486	2.323	21

Moyenne: 31,1 %

Tableau VIII. — La consommation de bières dans les dépenses de la femme.

Femme	Dépenses provenant de la consommation de bière pendant 7 mois en francs C.	Dépenses totales pendant 7 mois en francs C.	$\frac{\text{Dépenses - bières}}{\text{Dépenses totales}} \times 100$ %
1	127	763	17
2	0	199	0
3	73	3.661	2
4	18	455	4
5	171	4.048	4
6	63	1.156	5
7	20	1.234	2
8	3	310	1
9	172	2.159	8
10	30	1.052	3

Moyenne: 4,6 %

CONCLUSIONS

Une étude aussi approfondie que possible de la production et de la consommation des bières dans un village de la brousse haut-katangaise, jointe à l'analyse de la composition de ces boissons fermentées, a permis d'arriver aux conclusions suivantes :

1. La production de bière (et donc la consommation) est importante, utilisant une grande quantité de matières pour sa fabrication, de l'ordre de 8.000 à 9.000 kg par an dans un village d'environ 500 personnes. La consommation varie du simple au double suivant la saison ; les hommes prennent 80 % de la production. La consommation par jour et par homme varie de 2,5 litres, en saison sèche, à 1,3 litre en saison des pluies. Les femmes ne prennent que 0,5 litre environ par jour.

2. Les boissons fermentées utilisées sont très diverses, ce qui avait déjà été signalé par différents auteurs ayant étudié ce problème : en effet, toutes les matières amylacées et toutes les céréales servent comme matières premières. Nous avons attiré l'attention sur une particularité technique remarquable de la fabrication du *munkoyo* : l'utilisation des racines d'*Eminia* comme agent d'hydrolyse spectaculaire de la bouillie amylacée. Il s'agit d'un procédé perfectionné et très élégant dont il serait utile d'étudier l'origine ; du point de vue ethnologique, il y aurait en effet un grand intérêt de savoir s'il s'agit d'une coutume servilement empruntée ou importée ou au contraire si elle constitue le fruit d'une observation propre à la race bantoue.

3. Au point de vue nutritionnel et alimentaire, plusieurs aspects sont à considérer :

a) La teneur en alcool des bières de céréales est faible ; la quantité totale d'alcool absorbée au cours de la journée reste modérée. Le vin de palme, plus alcoolisé, est plus coûteux et ne constitue une boisson habituelle que dans les régions à palmeraies situées dans la moitié Nord du Katanga.

b) A cause de leurs faibles teneurs en alcool et en hydrates de carbone, les bières indigènes n'ont qu'une valeur calorique peu importante. L'apport en protéines n'est pas négligeable en raison du volume absorbé par l'homme.

c) Les bières fermentées réalisent certainement un important apport de fer pour la population adulte. Il y aurait grand intérêt à connaître les quantités de fer fournies par le reste du régime, eu égard aux constatations faites en Afrique du Sud par Walker et coll (13), Higginson et coll. (5), où les Bantous ingèrent des quantités très élevées, mêmes nocives, de fer provenant de la contamination par les ustensiles culinaires. Il est toutefois peu probable que les populations katangaises étudiées se trouvent dans les mêmes conditions d'ingestion élevée de fer du fait de l'usage généralisé de récipients émaillés pour la préparation des repas.

d) Le grand intérêt des bières fermentées, réside dans leur richesse en vitamine du groupe B: ces boissons sont troubles et contiennent des levures et autres micro-organismes (Nicholls). La teneur en Thiamine, Riboflavine, Cobaltamine et probablement d'autres représentants de cette série, avec l'acide pantothénique, fait que les boissons fermentées indigènes constituent un élément important dans la prophylaxie des avitaminoses susceptibles de se manifester en zone tropicale. La concentration en vitamines du complexe B peut augmenter dans des proportions très notables quand survient une « surinfection » ou une contamination accidentelle, qui doit certainement se produire de temps à autre, étant donné les conditions de préparation et de conservation. C'est dans ce sens que nous avons interprété les valeurs des vitamines B₁ et B₁₂ très élevées et très différentes d'un échantillon à l'autre.

4. La préparation des bières constitue une occupation assez absorbante pour la femme indigène; sa vente représente pour elle un revenu assez important, de l'ordre de 60 % de son revenu total.

La consommation de bière entre pour 31 % dans le budget global de l'homme. Toutefois, étant donné le système de rotation des « cabarets », les dépenses effectuées par l'homme se font au bénéfice des femmes du village, et donc de sa propre femme quand elle prépare le *munkoyo* à son tour.

5. Si on fait le bilan des avantages et des inconvénients rencontrés dans les aspects que nous avons envisagés dans l'utilisation des boissons fermentées au Haut-Katanga, nous devons admettre que ces boissons constituent un élément nutritionnel très intéressant à différents points de vue. Ce fait, à lui seul, justifie le maintien de la tradition du brassage local qui tient une si grande place dans la vie coutumière tout en permettant l'utilisation judicieuse d'un excédent de matières premières. Il est peu probable que la faible teneur alcoolique des bières étudiées constitue un danger pour la santé de l'individu et de la collectivité.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Adriaens, s.-L. et Lozet, F., Contribution à l'étude des boissons fermentées indigènes au Ruanda (*Bull. Agr. Congo Belge* 1951, XLII, 4).
- (2) De Wildeman, E., Documents pour l'étude de l'alimentation végétale de l'indigène au Congo Belge (Bruxelles, Hayez, 1934).
- (3) De Wildeman, E., Notes sur les plantes médicinales et alimentaires du Congo Belge (Bruxelles, Hayez, 1939).
- (4) Grévisse, F., Notes ethnographiques relatives à quelques populations autochtones du Haut-Katanga industriel (*Bull. C.E.P.S.I.*, 1956, 32).
- (5) Higginson, J., Gerritsen, T. and Walker, A.R.P., *Am. J. Path.* (1953, 29, 779).
- (6) I.N.É.A.C., Flore du Congo Belge et du Ruanda-Urundi: Spermatophytes (Bruxelles, 1948-1958).
- (7) Nicholls, L., *Tropical Nutrition and Dietetics* (3e Éd., Ballière et Cie., London 1951).
- (8) Poot, A., Le *munkoyo*, boisson des indigènes Bapende (Katanga) (*Bull. Séances Inst. Roy. Col. Belge*, 1954, XXV, 1).
- (9) Staner, P., Plantes congolaises à fruits comestibles (Publ. I.N.É.A.C. ScSer., 4, 1935).
- (10) Thomson, B.P., *Two Studies in African Nutrition* (Manchester University Press, 1954).
- (11) Tihon, L., A propos de quelques boissons fermentées indigènes (*Bull. Agr. Congo Belge* 1934, XXV, 1).
- (12) Vanderyst, H. (R.P.), Le vin de palme ou *malafu* (*Bull. Agr. Congo Belge* 1920, XI, 3-4).
- (13) Walker, A.R.P. and Arvidson, U.B., *Tr. Roy. Soc. Trop. Méd. and Hyg.* (1953, 47, 536).

A propos des Parcs Nationaux du Congo Belge

par le Prof. R. BOUILLENNE, de l'Université de Liège

La nature est protégée, de nos jours, dans tous les pays civilisés. C'est, en effet, le propre de l'homme réellement civilisé de concevoir et d'appliquer des mesures de protection en faveur des sites naturels de son pays, de sa flore, de sa faune et de son sol. Ce devoir a été reconnu depuis longtemps par les biologistes ; il ne peut échapper à aucun gouvernement clairvoyant. Et maintenant le problème signifie bien plus que la lutte contre l'érosion des sols ; il concerne la conservation de la vie sauvage.

Malgré les progrès rapides des connaissances biologiques, malgré les explorations nombreuses qui ont sillonné toutes les régions du monde, on est encore loin de connaître les animaux et les végétaux de toute la terre, en particulier de certains territoires situés entre les deux tropiques.

Or, la connaissance des formes végétales et animales est indispensable, non seulement pour compléter les documens scientifiques sur les problèmes de la vie, pour obtenir une idée adéquate des classifications biologiques, pour comprendre l'évolution du monde organisé, mais aussi pour conserver dans des sanctuaires des êtres vivants qui pourraient nous être utiles.

Malheureusement, beaucoup d'espèces disparaissent. Depuis deux mille ans, 110 espèces de mammifères n'existent plus. Depuis environ deux cents ans, 600 espèces d'animaux divers sont en voie d'extinction, et que penser des plantes qui sont soumises, chaque année et partout, à des défrichements, à des feux destructeurs, à des drainages qui les tuent...

Le monde végétal subit une décadence impressionnante. Dans les pays tempérés, les plantes sauvages ne peuvent plus vivre qu'au bord des chemins ou des champs ; dans les pays chauds, les populations des espèces pyrophytes s'étendent sur des surfaces dégradées immensément agrandies, aux dépens des autres espèces qu'on ne peut plus trouver que de loin en loin.

Depuis un demi-siècle, les exigences d'une économie mondiale explosive, et peu soucieuse des conséquences qu'elle entraîne dans la nature, font peser partout une menace qui devient évidente, sur-

tout lorsqu'elle atteint la stabilité des facteurs de l'habitat des espèces vivantes condamnées, dans ces conditions, à périr. Nous le regretterons amèrement lorsque nous en deviendrons réellement conscients.

D'un côté, ne serait-ce pas bien dommage si le café avait disparu avant que nous ayons pu le mettre en exploitation ? Sommes-nous sûrs qu'il ne sera pas encore utile de puiser, parmi les espèces sauvages, pour satisfaire les nécessités de plus en plus larges de nos cultures, de nos élevages et de la récolte des produits de la nature ? D'un autre côté, ne savons-nous pas que les études nécessaires à ce sujet sont très lentes ; elles doivent être assurées par des générations de naturalistes et de biologistes disposant des données accumulées par le travail patient des devanciers, et ne voyons-nous pas avec quelle vitesse sévissent les causes de destruction ?

De plus, si dans les groupements phyto-sociologiques il existe des espèces bien représentées pouvant survivre à des perturbations même accentuées de leur milieu naturel, il en est d'autres, plus rares, qui vivent dans un habitat étroitement conditionné et disparaissent dès que celui-ci est troublé.

De sorte que l'altération d'une communauté végétale peut, tout en n'étant pas une destruction totale, représenter cependant un désastre écologique et une perte pour ceux qui étudient. La plupart des espèces rares d'aujourd'hui sont souvent des reliques ; elles sont plus utiles que des fossiles vrais, car elles sont vivantes encore : on pourrait les multiplier, les croiser avec des plantes d'aujourd'hui susceptibles d'être cultivées à des fins alimentaires ou horticoles.

Enfin, la beauté de la nature sauvage, l'infinie variété des sites naturels, sources de joies et d'émotions profondes, réclament la protection des paysages de la terre pour des raisons aussi valables que les motifs d'ordres scientifique et économique.

Les conditions de plus en plus artificielles de notre vie citadine, s'agitant dans un univers de béton, de fer et de pétrole, causent à la santé mentale de nos générations actuelles des dégâts considérables ; on a condamné l'homme à vivre comme une machine. Aujourd'hui, la machine se dérègle et l'homme sent la nécessité de retrouver, ne fût-ce que pendant quelques fugitifs instants, une vie saine et simple, la liberté de circuler dans l'air pur, d'entendre les bruits des torrents et le chant des oiseaux, de connaître la chaleur des midis d'été et le froid sec des journées d'hiver, il veut sentir l'espace autour de lui, il se réjouit de voir vivre les animaux chez eux. Le tourisme de plein air n'est plus, aujourd'hui, un caprice de dilettante, c'est une thérapeutique sociale, et les gouvernements conscients de leurs responsabilités doivent y pourvoir.

Raisons scientifiques, raisons économiques, raisons esthétiques, raisons hygiéniques, font de la protection de la nature un problème essentiel, une obligation morale de l'homme moderne.

* * *

Pour être efficace, la protection de la nature doit être absolue et intangible, et cette forme n'est réalisée que dans les Parcs nationaux et les Réserves naturelles... véritables conservatoires de la Nature, dont le premier en date est le « Yellowstone National Park » des Etats-Unis d'Amérique, créé en 1872.

Si la protection de la nature est un devoir impérieux dans tous les pays, elle n'acquiert nulle part la même importance que dans les contrées intertropicales, où sévissent sur une terre généralement pauvre des méthodes de culture épuisantes, incompatibles avec l'existence de la grande faune et la stabilité des équilibres naturels. Ces régions étant les principales sources de matières premières pour les vieux pays comme l'Europe, et leurs ressources naturelles n'étant pas encore entièrement inventoriées, le problème de la protection prend pour elles, plus qu'ailleurs, un aspect international. Plusieurs conférences et congrès internationaux s'en sont préoccupés. Citons : Paris, 1923 et 1931 ; Londres, 1933 ; Fontainebleau, 1948 ; Venezuela, 1948 ; Athènes, etc.

Dès 1889, c'est-à-dire quatre ans après la fondation de l'Etat indépendant du Congo, le grand roi Léopold II, prévoyant les effets désastreux pour la nature de la pénétration du Blanc, avait promulgué un décret, ordonnant l'établissement de réserves de chasse en Afrique centrale pour éviter la destruction des éléphants.

Après la Conférence internationale pour la Protection des animaux sauvages africains, tenue à Londres en 1900, l'Etat indépendant du Congo édicta une réglementation générale de la chasse, sous forme d'un décret promulgué en 1901. Le Roi, toujours bien informé et perspicace, aurait voulu aller plus loin dans cette voie, et il envisageait la création en Afrique de réserves naturelles intégrales, à l'instar de ce qui s'était fait aux Etats-Unis d'Amérique. Malheureusement, ce grand projet ne fut jamais réalisé par lui.

En 1919, au cours de son voyage aux Etats-Unis, le roi Albert exprima à l'ambassadeur de Belgique à Washington, le baron de Cartier de Marchienne, son désir de voir créer, au Congo belge, des parcs nationaux comparables aux parcs nationaux américains.

L'ambassadeur de Belgique, apôtre ardent de la protection intégrale de la nature, ne négligea aucune occasion pour mettre la suggestion royale à exécution. Il s'assura l'appui d'un certain nombre de savants américains qui s'occupaient activement de la protection de la nature en Amérique : le Dr John C. Merriam, président de la « Carnegie Institution », à Washington ; feu le professeur H. F.

Osborn, président de l'« American Museum of Natural History », à New-York, et d'autres encore.

En 1920, le naturaliste taxidermiste Carl Akeley, de l'« American Museum of Natural History », organisa une expédition dans les volcans du Kivu, afin d'y rechercher les gorilles, dont l'existence avait été signalée dans ces régions. Carl Akeley réussit à observer de près ces animaux fort rares et intéressants, sur lesquels il attira l'attention du monde scientifique et pour lesquels il réclamait une protection efficace.

Bientôt, par l'intermédiaire de M. William Phillips, ambassadeur des Etats-Unis à Bruxelles, et de certaines personnalités belges, un mouvement d'opinion favorable se dessina dans le monde scientifique de notre pays. Le projet de création d'un Parc national au Kivu prenait rapidement corps et rencontra, le 28 mars 1925, l'approbation unanime du Conseil colonial de Belgique.

Le 25 avril 1925, le roi Albert signait le décret créant au Kivu une réserve de faune et de flore, appelée « Parc National Albert », et comprenant le volcan Mikenno, la moitié du volcan Bishoke et le tiers du volcan Karisimbi. L'étendue de cette réserve, qui avait surtout pour but la protection des gorilles et des forêts qu'ils habitent, était d'environ 20.000 hectares. L'administration en était confiée au gouverneur général du Congo belge.

On sait qu'au cours d'une nouvelle expédition au Kivu, en compagnie du Dr J.M. Derscheid, Carl Akeley trouva la mort en 1926 et qu'il fut inhumé sur les flancs du volcan Mikenno, à environ 2800 mètres d'altitude, au milieu de la réserve qu'il avait contribué à créer.

Un décret du 9 juillet 1929 étendait la Réserve à toute la région des volcans Virunga et à la plaine du lac Edouard. L'étendue totale du « Parc National Albert », y compris les territoires annexes, devenait ainsi d'environ 350.000 hectares. La gestion administrative et scientifique du Parc était confiée à une Commission qui fut inaugurée par le Roi, le 19 octobre 1929, au cours d'une mémorable cérémonie tenue au Palais des Académies, à Bruxelles.

Depuis, à l'intervention de S.A.R. le prince Léopold, le « Parc National Albert » s'est agrandi de manière à y incorporer les régions s'étendant depuis le sud du lac Edouard jusque et y compris l'immense massif du Ruwenzori. Le 26 novembre 1934, l'institution « Parc National Albert » fut remplacé par l'institution des « Parcs Nationaux du Congo Belge ». De plus, d'autres parcs nationaux furent créés : celui de la Kagera, situé dans le nord-est du Ruanda ; celui de la Garamba, dans le Haut-Uélé, destiné principalement à la protection des girafes et des rhinocéros blancs, qui vivent encore dans ces régions, au milieu d'une végétation à caractères soudanais.

Enfin, celui du lac Upemba, qui comprend actuellement toute l'ancienne réserve de chasse du Katanga.

Les parcs nationaux sont des terres domaniales inaliénables, dont les habitants éventuels ont été évacués après accord à l'amiable et moyennant de justes compensations des droits indigènes. Seuls les pygmées ou Batwa ont droit de cité dans les parcs nationaux. Ils y contribuent d'ailleurs à la protection des forêts qu'ils habitent. Toute intervention et action humaines sont défendues et un corps de gardes indigènes assure partout la surveillance, sous la direction de conservateurs blancs soigneusement recrutés.

Au point de vue scientifique, le programme est des plus vastes et comporte, avant tout, l'inventaire floristique, faunistique, géologique, etc., des différentes régions. Cette partie du programme est poussée très activement, surtout dans le « Parc National Albert », par l'envoi de missions scientifiques pour la récolte de matériaux d'étude, qui sont travaillés ensuite dans nos musées et nos universités et avec l'aide de spécialistes étrangers.

Par son programme touristique, l'« Institut des Parcs Nationaux du Congo Belge » veut associer le grand public à son œuvre de conservation en lui inspirant l'amour de la nature. Certaines zones sont ouvertes au public, qui peut, sans trop de frais, jouir des plus beaux spectacles de la nature africaine.

* * *

Mais aujourd'hui, le Congo ayant obtenu son indépendance, nous voulons espérer que les nouveaux dirigeants ne détruiront pas ou ne permettront pas de détruire ce que nous avons préservé avec tant de difficultés au nom d'un principe universel.

Comme le disait le roi Albert en 1934, la protection de la Nature ne peut être abandonnée à l'initiative de groupements isolés dont l'action forcément restreinte ne peut imposer l'ensemble des mesures efficaces de conservation. Seul l'Etat peut et doit assurer les charges d'une organisation protectrice qui intéresse l'humanité tout entière, dans son progrès moral, social, économique et scientifique, et nous souhaitons que l'autorité du nouvel Etat ne se laissera pas influencer par les assemblées locales, comme on a constaté que c'est le cas dans les territoires de la Communauté française où elles ne cessent de revendiquer des franchises en ce qui concerne la détention des armes et les abattages de gibier.

On voit que les latitudes accordées par les nouveaux gouvernements, comme en Afrique équatoriale, anciennement française, pour les achats d'armes sont telles que l'on peut s'attendre à un massacre généralisé de la grande faune africaine. Il n'y faudra que quelques années, c'est-à-dire le temps nécessaire pour que tout gibier, qui vaudra le prix de la cartouche, soit abattu et commercialisé.

Les restrictions, les réglementations, la surveillance des parcs nationaux pourraient également être abolies par les autorités autochtones qui se comportent souvent comme les premiers braconniers de leur zone de commandement.

Sans doute certains comprendront-ils qu'il ne faut pas tuer la poule aux œufs d'or et qu'il importe, entre autres, de ménager le capital gibier pour en tirer rationnellement profit, d'abord pour les populations locales ensuite pour le tourisme. Mais il est à craindre qu'il ne s'agisse là que d'exceptions et que nous voyions, sans pouvoir réagir, l'extermination de la faune de l'Afrique centrale constituant le peuplement animal sauvage le plus original, le plus divers et le plus important de tous les continents.

* * *

Pour donner une idée de la nature du Centre de l'Afrique, heureusement conservée encore dans le « Parc National Albert », visitons-le brièvement.

Le « Parc National Albert » est situé dans la Haute-Afrique qui s'étale en un vaste plateau de 1000 mètres d'altitude et qui est fort différent du Congo lui-même. Il fait partie de la chaîne de montagnes qui commence au mont Sinaï, longe le rivage de la mer Rouge et se continue depuis l'Abyssinie à travers le district des grands lacs jusqu'à la Rhodésie et l'Afrique du Sud.

Le Nil coule au pied du bord occidental de cette chaîne de montagnes ; il y a ses sources et sa vallée suit ce qu'on appelle le grand Graben ou la « Rift Valley ».

Le « Parc National » occupe une section de grand Graben. Il se trouve resserré au fond de ce fossé entre le lac Kivu au Sud et le 1^{er} degré latitude Nord, sur une longueur de près de 300 km. A l'Est et à l'Ouest, il est littéralement muré par les deux escarpements du Graben dont la dénivellation importante élève un obstacle quasi infranchissable aux migrations d'éléments botaniques et zoologiques. Il se présente un peu comme un vase clos d'autant qu'au Sud, l'horizon est barré par la chaîne des volcans Virunga (3500 à 4000 m.) et au Nord par le puissant massif de Ruwenzori (5000 m.).

Le « Parc National Albert » comprend ainsi une superficie d'environ 900.000 hectares et se divise grosso modo en 4 secteurs : celui des volcans, celui de la plaine du lac Edouard, celui de la Semliki et celui du Ruwenzori.

Dans le secteur des volcans, deux sont en activité, le Nyiragongo et surtout le Nyamuragira qui, la nuit, illumine le ciel de bouleversantes clartés rouges.

Les laves refroidies sont en voie de colonisation, la dernière en 1948 ; les plus anciennes portent de la forêt.

Au niveau de la base des volcans existe une forêt de montagnes (1000 m.), ombrophile, dense. Aux alentours de 2600 m. existe un très étrange étage de forêt de bambous.

Vers 3000 m. apparaissent les Hagenia, avec un sous-bois typique habité par une espèce de gorille endémique, de très grande taille et à toison épaisse. Puis plus haut, les étages de végétation subalpine : Bruyères arborescentes, Sénéçon, Lobélie, Alchemille, etc., formant un paysage étonnant d'apparence préhistorique, jusque vers 4000 m. où succèdent les Lichens, les Mousses...

La plaine du lac Edouard est d'origine récente ; elle est au stade de la colonisation herbeuse, passant à celui de l'introduction naturelle des arbustes épineux et des Euphorbes. Cette végétation est installée sur des alluvions du lac Edouard. L'herbe a permis une extraordinaire pullulation d'antilopes, mais la modification de l'habitat entraîne la diminution de celles-ci ; tandis que les éléphants et les buffles, qui s'accommodent d'un faciès plus boisé, se multiplient considérablement. Les carnassiers — lions, léopards, chacals, lycaons — remplissent leur rôle de sélectionneurs de la faune en faisant disparaître tout animal malade ou mal conditionné. Les hippopotames colonisent les rivières.

Protégée depuis trente ans, cette faune vit dans une absolue quiétude insouciant des présences humaines qu'elle a appris à ne plus redouter.

Sur les rives du lac Edouard, nappe d'eau immense peu profonde et poissonneuse, vivent d'innombrables colonies d'oiseaux.

Le secteur de la Semliki, rivière qui met en communication le lac Edouard avec, au Nord, le lac Albert, comporte plusieurs parties dont celle de la Haute-Semliki, représentée par de vastes horizons de savanes herbeuses. Là, vivait jadis une faune très abondante qui fut ravagée par des campagnes de chasse désastreuse. Aujourd'hui, elle se reconstitue lentement.

Plus au Nord, une partie forestière abrite encore plusieurs familles de gorilles.

Quant au Ruwenzori, dont le sommet atteint le niveau des glaciers, à 5000 m. d'altitude, son ascension organisée permet de parcourir les étages de végétation déjà aperçus sur les volcans, mais dans des conditions de pittoresque encore plus impressionnantes.

* * *

La grande importance du « Parc National Albert » ressort de sa situation. Au cœur même de l'Afrique centrale, dans la région de rencontre des flores et des faunes de l'Afrique occidentale d'une part, et de l'Afrique orientale de l'autre. C'est ainsi qu'à côté de

de nombreux éléments propres à l'Afrique centrale, on y rencontre des plantes et des animaux des deux grands domaines africains, Congo - Nil, à la limite de leur aire d'extension.

Nos descendants ne nous pardonneraient jamais si nous abandonnions à la destruction une si grande richesse biologique et de telles beautés naturelles.

Grâce à l'ampleur des vues humanitaires qui ont animé, il y a trente ans, les inspireurs et les réalisateurs des Parcs nationaux du Congo belge, le monde actuel peut encore jouir du spectacle grandiose et utiliser le patrimoine scientifique qu'offrent les territoires mis en réserves en Afrique centrale.

On doit souhaiter que cette merveilleuse entreprise survive aux changements politiques qui sont intervenus en Afrique centrale.

Institut de Botanique de l'Université de Liège

Étude écologique et phytosociologique
de la végétation des *Esobe*
de la région Est du lac Tumba
(Congo belge)

PAR

P. DEUSE

DOCTEUR EN SCIENCES.

INSTITUT POUR LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE EN AFRIQUE CENTRALE
(CENTRE DE L'ÉQUATEUR À MABALI)

ET

INSTITUT BOTANIQUE DE L'UNIVERSITÉ DE LIÈGE.

Mémoire présenté à la séance du 23 mai 1959.
Rapporteurs : MM. R. BOUILLENNE et W. ROBIJNS.

Étude écologique et phytosociologique de la végétation des *Esobe* de la région Est du lac Tumba (Congo belge)

INTRODUCTION

Esobe est un terme indigène de la Cuvette centrale congolaise. C'est le nom d'une graminée *Hyparrhenia diplandra* (Hack) STAPP.

Par extension, ce terme désigne les endroits où cette graminée forme des peuplements étendus et, en définitive, toutes les prairies herbeuses sèches ou marécageuses que l'on trouve éparses dans la partie occidentale de la forêt équatoriale du Congo belge.

Les *esobe* sont donc des plaines herbeuses ; leur étendue est relativement faible. Les formations forestières de terre ferme ou de marécage les entourent généralement.

L'existence de ces plaines ouvertes dans une région équatoriale où le climat est forestier, ne laisse pas d'être surprenante.

W. ROBIJNS (1936) considère les *esobe* comme des savanes édaphiques naturelles sur des terrains non colonisables par la forêt et nouvellement exondés [50]*.

En collaboration avec R. BOUILLENNE et J. MOUREAU, nous avons esquissé l'étude de la végétation d'un *esobe* situé au bord du lac Tumba dans le domaine dépendant du Centre de l'Équateur de l'Institut pour la Recherche scientifique en Afrique centrale [11].

A présent, nous entreprenons une étude écologique et phytosociologique plus approfondie des *esobe* de cette région, afin de rechercher les relations qui pourraient exister entre les associations végétales qui les couvrent, de définir les microclimats caractéristiques et de tenter d'élucider, si possible, l'origine de ces biotopes.

* Les chiffres entre [] renvoient à la bibliographie, p. 107.

Cette étude a été réalisée au cours du mandat de recherches dont nous avons été chargé par l'I. R. S. A. C. de 1954 à 1956.

Nous remercions le docteur J. MOUREAU, chef du Centre de Mabali, pour les nombreux renseignements et les conseils qu'il nous a prodigués. Nos remerciements s'adressent aussi au professeur R. BOUILLENNE avec qui nous avons pu jeter les bases de cette étude au cours d'un voyage effectué ensemble en 1953 et qui n'a pas cessé de s'intéresser à notre travail, de nous aider, de nous encourager. Nous remercions aussi le professeur W. ROBIJNS, MM. F. DEMARET, G. TROUPIN, E. PETIT et P. VAN DER VEKEN du Jardin botanique de l'État à Bruxelles, MM. J. LÉONARD, G. GERMAIN et DENIS de l'Institut national pour l'Étude agronomique du Congo belge pour l'aide précieuse qu'ils nous ont apportée dans la détermination de nombreux spécimens d'herbiers.

I. Historique de l'exploration de la région du lac Tumba.

Les premières explorations de la Cuvette centrale du Congo (THONNER en 1898) [57] signalent la présence de « plaines herbeuses » dans la forêt dense équatoriale et particulièrement dans le bassin de la Mongala. Cet auteur, ultérieurement, confirme ce fait ; il décrit des savanes sèches et des plaines herbeuses d'apparence marécageuse dans la région d'Irebu.

DE WILDEMAN [18, 19], d'après les rapports de THONNER, expose ses vues d'ensemble sur la forêt de l'Ubangi-Congo ; il y fait mention de deux savanes étendues.

De 1905 à 1915, paraissent de nombreux travaux (avec cartes) dans lesquels les auteurs donnent aux savanes une superficie d'importance croissante, allant jusqu'à déclarer que la forêt équatoriale n'existe qu'au long des rivières sous forme de galeries et que toutes les crêtes de partage des eaux portent des végétations ouvertes, non forestières [BARTHOLOMEW, 6 — BERTRAND, 8 — MOISEL, 41 — DE WILDEMAN, 19].

MILDBRAED [40] (expéditions en Afrique centrale et particulièrement voyage entre le Ruwenzori et Coquilhatville) montre qu'au contraire la forêt est une entité continue, mais qu'il y existe des clairières herbeuses, toujours de faible étendue.

ROBIJNS [49, 51] en 1930 confirme l'existence de « lambeaux de brousse » appelés *esobe*, constituant « autant de taches claires au milieu de l'épaisse frondaison » de la forêt équatoriale. Il signale 6 *esobe* dans la région du lac Tumba dont 2 aux environs de Bikoro [ROBIJNS 50].

STANER [56] et LEBRUN [31] adoptent ce point de vue et ROBIJNS [50] en 1936 consacre une étude aux formations herbeuses du district forestier central du Congo belge. Il réserve le nom d'*esobe* aux groupements herbeux qui sont situés à l'ouest du 24° de longitude, à l'intérieur de la grande forêt humide à *Copaïfera*, *Cynometra* et *Uapaca*, et qui correspondent surtout aux régions basses et marécageuses.

ROBIJNS [50] étudie plus particulièrement quelques *esobe* des environs de Coquilhatville. Il donne la composition floristique pour chacun d'eux, établit des listes d'espèces et décrit quelques formations végétales. Il paraît avoir rencontré des *esobe* de terre ferme. En ce qui concerne les *esobe* marécageux, avec des formations de Cypéracées, il considère qu'ils...

« ...sont beaucoup plus rares que les prairies agrostologiques et qu'ils sont éparpillés dans tout le district forestier central ».

Les prairies à *Jardinea congoensis* FRANCH, qu'il a examinées, occupent des lagunes riveraines. L'auteur émet l'hypothèse qu'elles pourraient évoluer en *esobe* marécageux ou humide.

ROBIJNS [52] en 1941 décrit la présence, dans le district de la Tshuapa entre autres, de clairières marécageuses qu'il appelle « bains d'éléphants ».

LÉONARD [35] en 1951 reconnaît des groupements herbeux dans la zone forestière ombrophile des environs de Yangambi. Ces enclaves sont petites ; certaines sont des endroits où les éléphants viennent régulièrement prendre leurs ébats ; certaines autres auxquelles l'auteur s'intéresse spécialement sont appelées...

« ...bains intérieurs ; clairières marécageuses situées au sein des forêts ombrophiles, de terre ferme ou périodiquement inondées, à proximité ou non d'un petit cours d'eau ».

L'existence de ces groupements est liée au passage des éléphants qui empêchent la recolonisation arbustive et arborescente de s'installer en piétinant les jeunes pousses et en cassant les branches.

Pour être complet, rappelons l'étude signalée plus haut de BOUILLENNE, MOUREAU et DEUSE [11] qui ont, en 1955, examiné l'ensemble de la végétation des bords du lac Tumba et qui ont parcouru un grand *esobe* comportant à la fois des parties sèches et des parties humides dont ils ont décrit les principales formations végétales.

II. Le cadre géographique.

La région qui fait l'objet de la présente étude est située au sud de la province de l'Équateur aux bords du lac Tumba, à 140 kilomètres de Coquilhatville ; elle appartient au territoire administratif de Bikoro, dont les coordonnées géographiques sont 18°07' de longitude Est et 00°45' de latitude Sud. Celles du Centre scientifique de l'I. R. S. A. C. à Mabali sont 18°06' E. et 00°54' S.

Le pays est plat, très mollement ondulé, ne dépassant pas 20 à 30 mètres de dénivellation. C'est la partie la plus déprimée de la Cuvette centrale congolaise. L'altitude mesurée au Beach du Centre de l'I. R. S. A. C. est de 329 mètres.

Le réseau hydrographique est tributaire du lac Tumba. De nombreuses rivières s'y déversent ; les plus importantes sont : sur la rive Ouest : la Ngange, la Ngoie, la Lombambo dont le cours est mal connu ; sur la rive Sud : la Bituka qui n'a pas encore été explorée en entier et qui, selon les indigènes, prendrait naissance dans des vastes marais qui sont aussi la source de rivières du bassin du lac Léopold II.

Sur la rive Est, les principaux affluents sont : la Mekitele, la Membe, la Mokala et la Loolo. Ces affluents sont mieux connus, car ils sont situés dans la région traversée par la route de Coquilhatville à Bikoro.

Toutes ces rivières ont un cours lent et sinueux ; leurs vallées sont très larges, peu marquées et peu profondes. Les rives sont entièrement forestières : forêts inondées toute l'année dans les zones d'embouchure, périodiquement inondées dans les parties moyennes de leurs cours, marécageuses en amont jusqu'aux sources.

Le lac Tumba est fort étendu ; sa plus grande longueur Nord-Sud est d'environ 50 kilomètres, sa plus grande largeur Ouest-Est de 35 kilomètres. Il a à peu près la forme d'un triangle rectangle dont la base serait la rive Nord. La surface d'eau libre est d'environ 765 kilomètres carrés.

Il communique avec le fleuve Congo par le chenal d'Irebu qui débouche en face du confluent du fleuve avec l'Ubangi. Les eaux du lac Tumba sont noires ; celles du Congo sont jaunes et alluvionnaires.

Le lac et les rivières sont soumis à des variations de niveau qui déterminent des inondations et des décrues périodiques. Les crues se produisent aux saisons des pluies. Celles du fleuve Congo à Coquilhatville ont lieu aux mêmes époques. Il en résulte que la montée du niveau des eaux du lac qui se fait parallèlement à celle du Congo est rapide et que les eaux du lac Tumba ne se déversent pas dans le fleuve. D'un autre côté, les eaux du fleuve, à notre connaissance, ne se répandent pas dans celles du lac, bien qu'une inversion de courant se produise à ces époques devant Irebu, au confluent du Congo avec le chenal et que les eaux jaunes pénètrent jusqu'à un certain point dans les eaux noires du chenal. Un poisson, le « capitaine », hôte habituel du fleuve, ne vit pas dans les eaux acides du lac et du chenal ; en période de crues, on en trouve morts dans le chenal, ce qui semblerait indiquer que le contact entre ces eaux différentes se fait sans transition.

La hauteur maximum atteinte par le lac peut varier d'une année à l'autre ; la différence extrême de niveau qui a été observée entre les eaux hautes et les eaux basses est de 4,45 m (1^{er} mars 1954). Elle est comprise entre 0,30 m et 4,75 m (1^{er} décembre 1958).

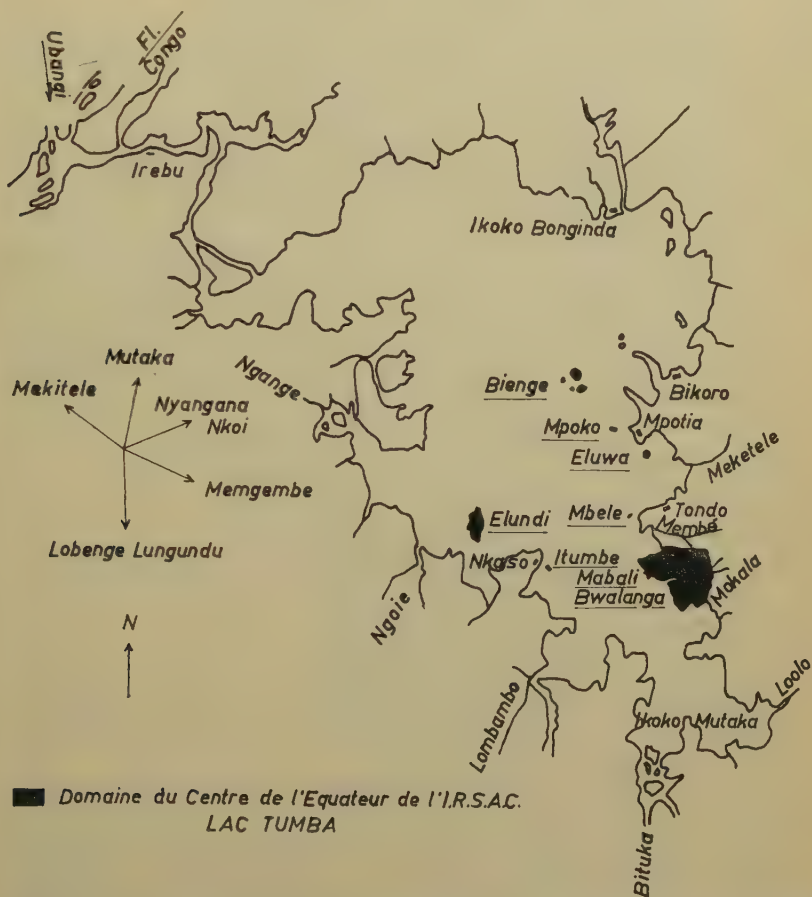
La fluctuation annuelle observée à Bikoro depuis 1936 se situe entre l'étiage de 0,25 m (18.8.1953) et la crue de 4,92 m (1 et 2.12.1948). Elle est inférieure à celle du fleuve Congo à Coquilhatville (4,98 m) et à celle existant à Lukolela (5,14 m) [DEVROEY, 17].

Au point de vue topographique, la partie Sud de la Province de l'Équateur a été peu étudiée et peu parcourue. Les explorateurs ont pu, dès 1896, dresser deux cartes du lac Tumba ; la première donne l'itinéraire du capitaine FIÉVEZ et du lieutenant SVENSON [23] où figure le lac de manière complètement fausse ; la deuxième rapporte l'exploration du lac lui-même par le capitaine SHAGERSTROM [54] en vue de l'établissement d'une ligne de navigation depuis Coquilhatville, ligne qui fonctionne encore actuellement ; elle est relativement précise.

La carte actuelle officielle du Congo belge reprend celle de ROLAND, administrateur du Territoire de Lukolela (ancienne dénomination du Territoire de Bikoro) qui a publié en 1937 le résultat de ses observations au cours de ses nombreux déplacements [53]. Le lac Tumba y est assez bien représenté.

Dès son installation à Mabali, l'I. R. S. A. C. a souhaité que les

documents aériens nécessaires à l'établissement de la carte du Congo soient recueillis avec une certaine priorité pour la région du lac. Grâce aux photographies, prises en 1954 et qui ont été mises à notre disposition, nous avons pu dresser avec une exactitude satisfaisante, la carte des rives du lac (*carte 1*).



CARTE 1. — Contour du lac Tumba établi par P. DEUSE d'après les photographies aériennes.

Rose des vents d'après ROLAND.

Ces photographies aériennes ont été également très utiles pour déterminer la localisation et l'étendue des principaux groupements végétaux. Une première carte a été, de la sorte, publiée

par R. BOUILLENNE, J. MOUREAU, et P. DEUSE [11], pour le territoire correspondant à la concession de l'I. R. S. A. C.

Mais une étude plus approfondie des documents topographiques et des groupements végétaux que nous avons réalisée, nous permet de compléter et de fixer à présent, certains points délicats (*carte 2*).

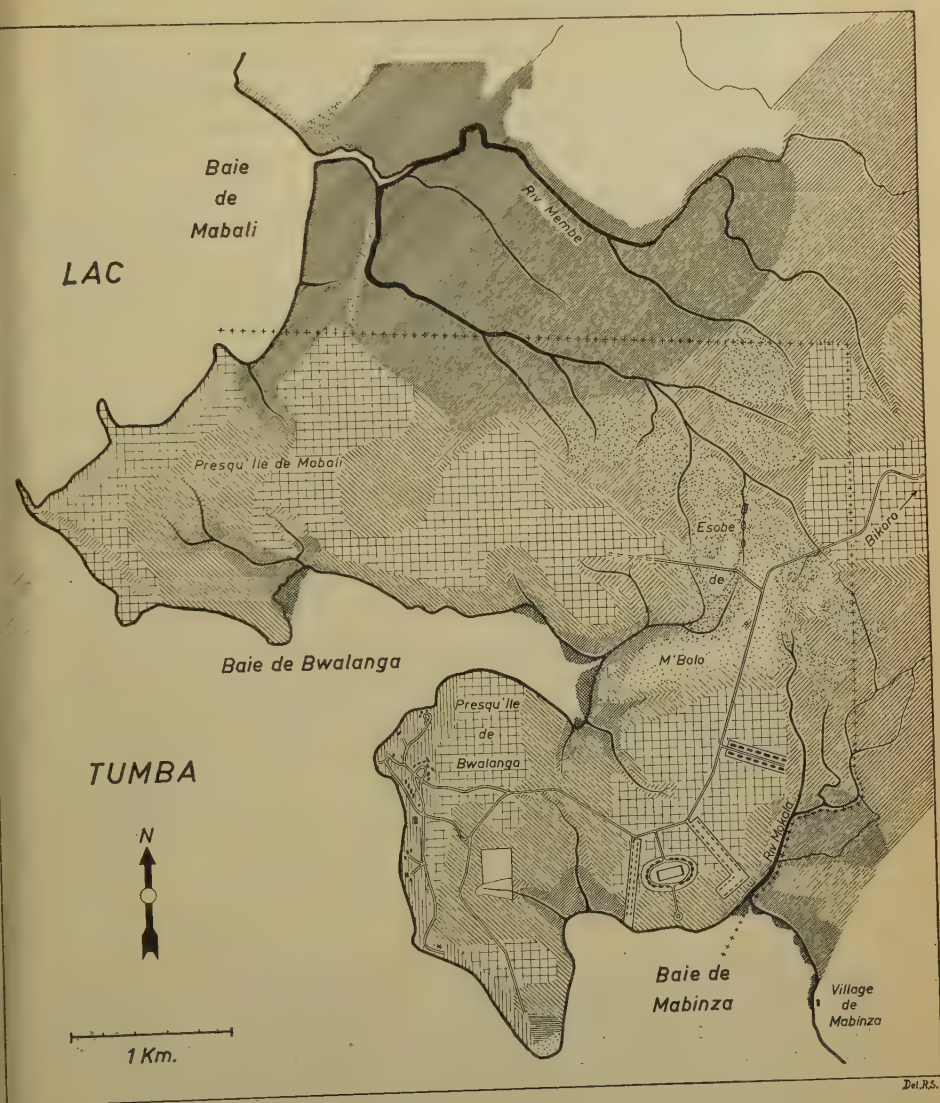
Au point de vue géologique, la région appartient à la Cuvette centrale congolaise qui reste encore relativement énigmatique. Formée à la fin du Pliocène, début du Pléistocène, par le bombement de la région Ubangi-Chari, il semble qu'elle ait été occupée par un lac sans exutoire dont l'existence a dû être relativement brève. La même phase tectonique aurait créé le Stanley-Pool [CAHEN, 13].

M. ROBERT [48] se demande si le lac Tumba et le lac Léopold II, qui n'en est pas éloigné, ne sont pas des reliquats de ce vaste lac de la Cuvette centrale, tout comme le fleuve Congo lui-même qui prend, de Bolobo au confluent du Lomami, l'aspect d'une véritable expansion lacustre résiduelle. Les deux lacs tendraient à passer au stade de simples marécages à partir du moment où le couloir de déversement de Kwamouth s'est creusé et approfondi, captant ainsi les eaux de la Cuvette vers le Stanley-Pool qui, lui-même, a été capturé par un fleuve côtier. CAHEN assigne à ces captures un âge Pléistocène inférieur.

Depuis cette époque, le bassin du Congo n'a guère subi de changements, sinon une érosion lente et continue.

Une autre hypothèse que pose également CAHEN considère les lacs Tumba et Léopold II, non pas comme des lacs résiduels mais comme des vallées noyées. P. FOURMARIER émet également la même considération.

R. BOUILLENNE (séjournant à Mabali, 1953) a examiné l'alluvionnement intense qui se manifeste le long du fleuve, en face du confluent de l'Ubangi et l'allure du chenal d'Irebu ; il a proposé une hypothèse qui fait intervenir les phénomènes de formation de digues comme celles des *restingaes* qu'il a étudiées en Amazonie. Ces dépôts, se développant, pourraient selon lui, rétrécir progressivement l'issue vers le fleuve des eaux des rivières venant de la rive méridionale et avoir relevé le niveau du plan d'eau. Certains lacs marginaux de l'Amazonie ont des traits communs avec le lac Tumba.



Del.R.S.

- Forêt à *Piptadeniastrum*
- Forêt à *Piptadeniastrum* et *Pycnanthus*
- Forêt à *Entandophragma* et *Staudtia*
- Formation secondaire à *Chlorophora* et *Ceiba*
- Prairie aquatique à *Echinochloa*
- Forêt inondée à *Guibourtia* et *Oubanguia*

- Forêt marécageuse à *Mitragyna* et *Xylopia*
- Esobe sec à *Hyparrhenia*
- Esobe humide tourbeux
- Recolonisation forestière sur esobe
- Endroits défrichés
- ++++ Limite du domaine de l'I.R.S.A.C.

CARTE 2. — Carte des formations végétales principales du domaine de l'I. R. S. A. C. à Mabali dressée par P. DEUSE et J. MOUREAU.

Le travail récent de G. MARLIER [1958, 38] apporte des arguments biologiques qui confirment cette hypothèse : eau très jeune chimiquement, faune sans endémisme marqué, semblable à celle des rivières avoisinantes et plus pauvre que celle du fleuve Congo. D'après MARLIER :

« ...il s'agit d'un affluent méridional du Congo qui se serait trouvé tout à coup barré par de puissants bancs d'alluvions, sur la rive gauche du Congo, amenés par le fleuve lui-même. L'embouchure de cet affluent aurait été rétrécie et reportée de plus en plus vers l'aval par le dépôt progressif de ses sédiments. C'est aussi ce que confirment la direction et l'aspect du chenal d'Irebu. »

III. Le cadre phytogéographique.

R. BOUILLENNE, J. MOUREAU et P. DEUSE [11] ont décrit les grands groupements végétaux des bords du lac Tumba. Ils ont distingué des faciès de terre ferme et des biotopes marécageux.

Nous reprendrons ici, en bref, les résultats de cette étude préliminaire en les augmentant de nos observations et considérations personnelles avant d'approfondir la question qui fait l'objet de notre travail : les *esobe*.

Dans les faciès de terre ferme, ces auteurs ont considéré :

1. FORÊTS DE TERRE FERME.

Les rives exondées en permanence et ensoleillées, portent une végétation forestière nettement héliophile. Les principales essences sont : *Pentaclethra Eetveldeana*, *P. macrophylla*, *Berlinia grandiflora* et *Dracaena reflexa*.

Les parties les plus élevées des presqu'îles, dont le sol est drainé deux fois l'an par l'abaissement du niveau d'eau, sont occupées par un groupement à *Piptadeniastrum africanum*, *Millettia Laurentii* et *Dracaena reflexa*. Cette formation a été la plus remaniée par l'homme, témoins les vieux *Elaeis guineensis* intercalés dans les hautes cimes des arbres dominants.

Ces divers groupements se rangent dans l'ordre des *Piptadenio-Celtidetalia* de LEBRUN et GILBERT (1954) [32].

Ces forêts appartiennent au type des forêts mésophiles. Elles sont à la fois équatoriales et guinéennes, subéquatoriales et périguinéennes.

On y trouve aussi des formations secondaires (*Fagaro-Terminetalia*, LEBRUN et GILBERT, 1954) dont les caractéristiques principales sont : *Picnanthus angolensis*, *Fagara macrophylla*, *Pentaclethra macrophylla*, *Ceiba Thonningii*, *Chlorophora excelsa*, *Morus sp.*

Plus loin, vers l'intérieur des terres fermes, là où le terrain s'affaisse légèrement et où la nappe aquifère est plus proche du sol, il existe un groupement plus nettement hygrophile à *Entandophragma angolense*, *E. utile*, *Guarea cedrata*, *Monodora angolensis*, *Austranella congolensis*, *Ongokea Gore*, *Erythrophleum guineense*, *Staudtia stipitata*.

Le pourtour des amphithéâtres des sources est colonisé par *Brachystegia Laurentii*.

2. RECRUS FORESTIERS.

Les terrains autrefois occupés par des cultures et non encore entièrement réoccupés par la forêt sont appelés *lobele* (Kundu). Il y subsiste quelques grands arbres : *Piptadeniastrum africanum*, *Albizia ferruginea*, *Ficus sp.*, *Morus sp.* dominant une végétation plus basse à *Caloncoba Welwitschii*, *Myrianthus arboreus*, *Macarangra spinosa*, *Baphia sp.*, *Pentaclethra Eetveldeana*. Le sol est tapissé de Zingibéracées, Marantacées et Commélinacées.

3. *Esobe* SEC.

Les parties élevées de l'*esobe* de Mbolo installées sur limon portent une formation herbeuse à *Hyparrhenia diplandra*, *Setaria restioides*, *Rhynchelytrum amethysteum*, *Bulbostylis laniceps*... Cette formation est parsemée de buissons de *Clappertonia ficifolia*, *Annona arenaria* et de petits arbres : *Harungana madagascariensis*, *Anthocleista Liebrechtsiana*...

La lisière forestière est constituée par *Jardinea gabonensis*, *Pentaclethra Eetveldeana*, *Baikiaea insignis*...

Dans les biotopes marécageux, il y a lieu de distinguer plusieurs formations :

a) *Forêt inondée de manière permanente.*

A l'abri des *restingaes* ou digues d'alluvionnement, les endroits d'eau calme et toujours inondés, même en période d'étiage, sont colonisés par une espèce arborescente qui constitue des peuplements purs : *Oubanguia Laurentii*. Le sol n'y est exondé que très exceptionnellement.

b) *Forêt périodiquement inondée.*

Les endroits où le sol est temporairement exondé portent un groupement d'*Oubanguia Laurentii* et de *Guibourtia Demeusei* (*Guibourtio-Oubanguetalia*, LEBRUN & GILBERT, 1954).

Là où la période d'exondaison dépasse 3 mois, on ne trouve plus d'*Oubanguia* mais un groupement de *Guibourtia Demeusei*, *Albizzia Laurentii*, *Uapaca guineensis*, *Lannea Welwitschii*.

Le sous-bois plus fourni est constitué de *Phoenix reclinata*, *Eremospatha macrocarpa*, *Alchornea cordifolia*...

c) *Forêt marécageuse.*

Sur les bords des ruisseaux et rivières, le sol reste gorgé d'eau en permanence et est submergé par les crues. La forêt a une composition particulière.

Mitragyne stipulosa et *Xylopia rubescens* dominant, mêlés à quelques *Guibourtia Demeusei*. Le sous-bois est dense et constitué de *Raphia Laurentii*, *Phoenix reclinata*, *Sclerosperma* sp. de Méla- de *Raphia Laurentii*, *Phoenix reclinata*, *Sclerosperma* sp. de Méla- stomacées et Zingibéracées... (*Mitragyno-Raphietalia*-SCHNELL,

4. TRANSITIONS AVEC LA FORÊT DE TERRE FERME.

Au contact avec les forêts de terre ferme, ces différents types de forêts sur sol hydromorphe présentent un groupement caractéristique à *Uapaca Heudelotii*, *Guibourtia Demeusei*, *Cynometra Schlechteri* et *Aframomum melegueta*.

5. ESOBE TOURBEUX.

Deux formations principales sont discernables : la plus répandue est une prairie basse à *Bulbostylis laniceps*, *Panicum parvi-*

folium, *Xyris* div. sp. *Lycopodium carolinianum*...; l'autre buissonnante à *Stipularia africana*, *Jardinea gabonensis*, *Dissotis* sp., *Cyrtosperma senegalense*, *Clappertonia ficifolia* ourle les lits à peine marqués des ruisseaux et ceinture les bosquets de forêt marécageuse.

IV. Le cadre climatique.

En dehors des observations enregistrées par l'importante station de météorologie de l'I. N. É. A. C. à Eala (Coquilhatville), quelques mesures climatiques sont réalisées à Bikoro.

En outre, l'I. R. S. A. C. a installé, d'accord avec le Service météorologique du Congo belge, une station sur son propre territoire de Mabali. Nous en avons assuré le fonctionnement et dépouillé tous les résultats pendant notre séjour à Mabali. Ensuite, l'enregistrement a continué régulièrement sous la responsabilité du chef de Centre, J. MOUREAU. Étant donné le peu d'informations publiées à ce sujet, nous donnerons aux documents que nous avons recueillis, un développement tout particulier et nous ferons appel aux documents présentés récemment par J. MOUREAU [42], pour l'année 1956.

F. BULTOT [12] range la région du lac Tumba dans la zone climatique *Af* caractérisée par une hauteur mensuelle de pluie du mois le plus sec, supérieure à 60 mm et par une température moyenne diurne du mois le plus froid, supérieure à 18° C.

En ce qui concerne la pluviosité, l'I. N. É. A. C. [25, 26] publie les hauteurs de pluie enregistrées dans les stations du Congo belge et du Ruanda-Urundi. Nous avons réuni, dans le *tableau I*, les chiffres obtenus à Bikoro, Coquilhatville, Eala et Boende. La moyenne annuelle est de 1.944 mm pour Bikoro, 1.774 mm pour Eala, 1.656 mm pour Coquilhatville et 2.173 mm pour Boende. Ces chiffres sont légèrement inférieurs à ceux obtenus dans d'autres régions équatoriales du monde.

Le *tableau II* compare ces différents résultats.

Tableau I. — Pluviosité annuelle en millimètres, de quelques stations de la Cuvette centrale.

Lieu Années	BIKORO	EALA	COQUIL- HATVILLE	BOENDE	MABALI
1940	2028,6	1902,5	—	2204,7	—
41	1824,8	1761,3	—	2014,9	—
42	1766,9	1924,9	—	2038,2	—
43	1481,0	1973,6	—	2032,1	—
44	2199,4	1659,6	—	2053,7	—
45	1996,1	1632,3	—	—	—
46	1600,4	1978,3	—	—	—
47	—	1714,8	1548,8	—	—
48	—	1664,4	1498,2	2369,9	—
49	1795,6	1705,6	1840,8	2013,0	—
1950	2223,7	1790,0	1546,5	2271,0	—
51	2289,8	1605,0	1612,1	2292,3	—
52	1942,5	1584,6	1667,3	—	—
53	1844,4	1698,9	1282,7	—	—
54	1861,1	1856,8	1844,6	—	2101,7
55	2362,2	1938,8	2066,1	2439,8	2634,5
Moyenne	1944,0	1774,4	1656,3	2173,2	
	14 ans	15 ans	9 ans	10 ans	

Les mesures réalisées à Mabali montrent des précipitations annuelles (1954) : 2.101,7 mm ; (1955) : 2.634,5 mm. Elles étaient respectivement à Bikoro de 1.861,1 mm et de 2.362,2 mm.

Une différence apparaît entre la lame d'eau enregistrée à Bikoro et à Mabali, postes voisins d'environ 30 km : en 1954, 240 mm de pluie et, en 1955, 272 mm en plus à Mabali. Nous ferons observer qu'il est possible que cette pluviosité plus importante à Mabali qu'à Bikoro puisse être due aux caractéristiques du milieu local : Mabali est situé en pleine forêt dans laquelle on a pris soin de n'ouvrir que quelques petites clairières, tandis que Bikoro est situé sur une presque île entièrement déboisée pour l'établissement du poste et les cultures indigènes. Les hauteurs mensuelles de pluie à Bikoro et à Mabali sont reprises au *tableau III* et comparées à celles de Boende, Coquilhatville et Eala. La hauteur des précipitations à Mabali se rapproche plus de celles de Boende que de celles d'Eala, Coquilhatville ou Bikoro.

Quatre périodes peuvent être différenciées à Mabali : faible pluviosité en janvier, puis pluviosité moyenne jusqu'en mai,

Tableau II. — Variations mensuelles des précipitations
au Congo belge, au Brésil et à Bornéo.

Lieu	Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	Année
Eala Congo belge (27 années) BERNARD [7]		86	133	121	165	164	135	76	162	176	224	199	165	1806 mm
Belem Brésil (18 années) LE COINTE [33]		296	360	388	321	261	195	166	119	87	80	64	150	2486 mm
Sampit Bornéo (plus. années) BOEREMA [1]		307	265	275	293	244	189	123	104	134	184	227	274	2619 mm

Tableau III. — Répartition mensuelle des pluies dans quelques stations de la province de l'Équateur.

1954	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	Année
Mabali	95,4	127,7	134,1	216,0	200,6	128,7	0,4	285,0	125,6	301,1	328,2	158,9	2101,7
Bikoro	117,7	196,4	184,8	11,7	183,6	46,3	0,0	215,0	101,6	113,8	357,4	232,8	1761,1
Coquilhatville	69,9	183,6	142,8	150,0	199,4	95,4	30,0	58,4	205,8	351,2	180,9	177,2	1844,6
Eala	142,3	217,4	107,7	146,6	198,2	124,6	27,0	57,4	217,9	216,4	234,1	167,2	1856,8
Boende	185,6	—	220,8	112,5	281,8	164,1	44,8	130,5	101,0	245,6	353,0	286,4	—
1955													Année
Mabali	239,1	179,8	361,1	193,1	259,9	180,7	28,7	43,3	177,3	619,1	160,6	191,4	2634,5
Bikoro	232,1	242,0	152,8	258,3	221,6	210,5	69,4	36,3	195,2	367,1	225,1	150,8	2362,2
Coquilhatville	167,3	54,7	99,4	99,8	171,7	155,9	221,2	90,1	408,7	224,7	231,7	140,9	2066,1
Eala	164,2	123,5	109,8	113,9	224,4	61,2	184,7	68,2	296,7	218,3	219,0	161,9	1938,8
Boende	311,0	138,3	373,4	142,0	149,7	77,3	132,4	174,6	203,2	290,5	229,8	217,6	2439,8

une période très sèche en juillet (0,4 mm pluie), une très pluvieuse d'août à novembre, enfin une période régressive des pluies en décembre.

Les maxima et minima de pluviosité correspondent respectivement aux deux saisons humides équinoxiales et aux deux saisons sèches solsticiales.

En juillet 1954, la sécheresse fut quasi totale, ce qui est tout à fait anormal pour la région équatoriale. Cette sécheresse fut générale dans toute la Cuvette centrale, « les cotes udométriques étant pour la plupart inférieures à 75 % de la cote normale » [I. N. É. A. C., *Bulletin climatique annuel du Congo belge*, 26].

Cette sécheresse anormale a provoqué de nombreuses pertes parmi les plantations de la Cuvette et particulièrement dans les cacaoyères. Elle a influencé défavorablement la végétation naturelle et spécialement les espèces forestières.

Une période analogue a été observée en 1955 : les deux mois de juillet et août secs étaient nettement en dessous de la moyenne, mais un peu plus humides que juillet 1954.

En 1956, la deuxième quinzaine de juin a été nettement en dessous de la moyenne (15 mm), juillet a été entièrement sec (0 mm). La première quinzaine d'août a été très sèche (4 mm) et la deuxième quinzaine un peu plus humide (79 mm).

Depuis le début des observations à Mabali, on a pu constater chaque année, 1 à 2 mois de saison sèche très prononcée, fait étonnant dans une région équatoriale.

Au point de vue température, les valeurs moyennes, maximum et minimum, ainsi que les maxima et minima absolus enregistrés à Mabali en 1954 et 1955, sont consignés au *tableau IV*.

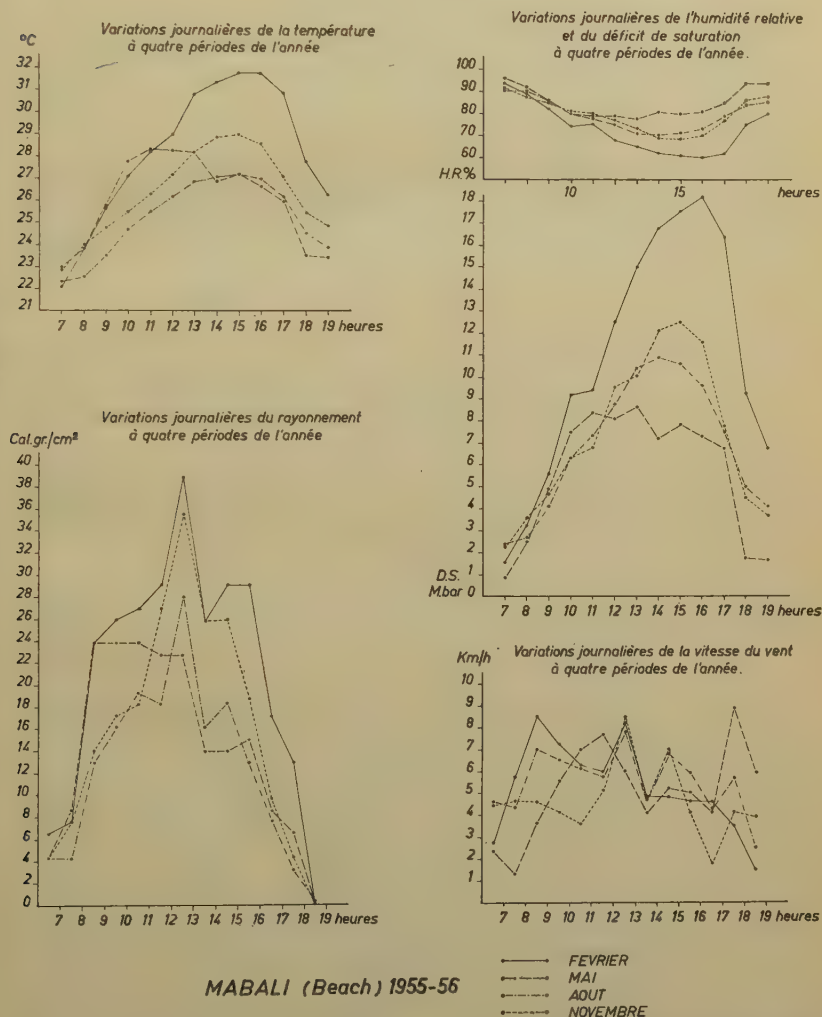
On constate que la température moyenne mensuelle est peu variable : avec un maximum 26,7° C en mars (saison des pluies) et un minimum 25,2° C en juillet (saison sèche) ; la valeur moyenne annuelle est de 25,8° C. Elle est très légèrement inférieure à celle des autres contrées équatoriales du globe : 26,2° à Belem au Brésil [LE COINTE, 33] et 26° à Batavia (Java) [ANGOULVANT, 1].

La température minimum moyenne mensuelle oscille entre 21,3° et 22,2° C ; la température minimum moyenne annuelle est de 21,8° C. La température minimum absolue observée est 18,9° C en août 1954. L'amplitude de la variation moyenne annuelle est de 8° C ; elle se situe mensuellement entre 6,7° C et 9,2° C.

Tableau IV. — Moyennes mensuelles et annuelles des températures journalières de l'air à Mabali (Station du Beach) (moyennes sur 2 ans 1954-1955).

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	Année
Température moyenne	26,1	26,2	26,7	26,2	26,6	25,6	25,2	25,3	25,2	25,6	25,3	25,6	25,8
Maximum moyen	30,5	30,6	31,3	30,2	30,9	29,5	28,6	28,7	28,9	29,6	29,8	29,5	29,8
Minimum moyen	21,8	21,9	22,1	22,2	22,2	21,8	21,9	21,9	21,5	21,6	21,3	21,5	21,8
Maximum absolu	34,5	35,6	36,5	33,5	33,7	32,4	30,9	31,8	32,1	32,6	33,2	34,0	36,5
Minimum absolu	19,1	19,6	19,4	19,9	20,6	20,2	20,2	19,4	19,8	18,9	19,0	19,7	18,9
Amplitude moyenne	8,7	8,7	9,2	8,0	8,7	7,7	6,7	6,8	7,4	8,0	8,5	8,0	8,0

Nous avons réuni dans le *diagramme 1* les valeurs moyennes des températures relevées heure par heure pendant une semaine, durant les mois de février, mai, août et novembre, qui sont les plus caractéristiques. Février présente une courbe maximum, mai une courbe minimum, août et novembre sont moyens.



MABALI (Beach) 1955-56

Diagramme 1. — Variations journalières de quelques facteurs microclimatiques à Mabali.

Le *tableau V* rassemble les données recueillies à Mabali en 1954 et les compare avec celles d'autres stations de la Province. Mabali et Bikoro ont la même température annuelle moyenne (25,9° C) voisine de celle de Boende (25,4° C), légèrement supérieure à celle de Coquilhatville et Eala (24,8° C et 24,9° C).

L'humidité de l'air et le déficit de saturation ont été calculés à partir des résultats obtenus par des thermomètres sec et humide sous abri. L'humidité est exprimée en humidité relative en pour-cent, le déficit de saturation en millibars. Les valeurs quotidiennes sont calculées à 8 h, 12 h, 16 h, et à 19 h (*Tableau VI*).

Nous avons figuré dans le *Diagramme 1* les courbes des valeurs de l'humidité relative et du déficit de saturation à chaque heure du jour pendant une semaine des mois les plus caractéristiques.

Elles montrent que :

1) En février, l'humidité relative atteint son minimum et le déficit de saturation son maximum ;

2) En mai, l'humidité relative est à son maximum et le déficit de saturation à son minimum ;

3) En août et novembre, les courbes sont moyennes.

En août, alors que les pluies sont nulles ou presque, déficit de saturation et humidité relative ont des valeurs moyennes.

Le déficit de saturation peut être momentanément très important : ainsi en mars 1955 à 16 heures, nous avons constaté 32,8 mb, chiffre comparable à ceux des savanes sèches. Un tel déficit est rarement atteint. Cependant, au cours d'une journée claire, il peut rester élevé pendant plusieurs heures. Ainsi, le 13 avril 1955, nous avons observé de 10 à 17 heures, un déficit de saturation variant de 9,2 à 12,0, 12,5, 15,2, 18,1, 19,5, 15,6 et 9,7 millibars. Le déficit de saturation doit avoir une influence certaine sur la végétation. Il place les plantes dans des conditions de savane sèche et il peut être une des causes de la présence de forêts trophiles dans cette partie de la Cuvette centrale.

Nous avons installé des thermomètres pour mesurer la température du sol et fait des mesures régulières depuis octobre 1955

Tableau V. — Moyennes mensuelles et annuelles de la température moyenne journalière de l'air dans diverses stations de la province de l'Équateur en 1954.

Lieu	Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	Année
Mabali		26,6	26,0	27,0	26,6	26,9	25,6	25,0	25,4	25,5	25,3	25,1	25,5	25,9
Bikoro		26,1	25,7	26,8	26,3	26,8	25,9	25,2	25,2	25,6	25,6	25,4	25,7	25,9
Coquilhatville		25,0	—	25,8	25,4	25,4	25,6	23,4	24,0	24,2	24,4	24,6	24,7	24,8 (sur 11 mois)
Eala		25,0	25,1	25,9	25,6	25,7	24,7	23,6	24,2	24,5	24,7	24,7	24,8	24,9
Boende		25,5	—	26,3	26,1	26,0	25,2	24,8	24,9	25,1	25,0	24,0	25,3	25,3 (sur 11 mois)

Tableau VI. — Moyennes mensuelles et annuelles de l'humidité relative et du déficit de saturation à heures fixes à Mabali (Moyennes sur deux ans 1954-1955).

(Les observations sont faites chaque jour à 8 h, 12 h, 16 h et 19 h.

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	Moyenne sur deux années
Humidité relative à 8,00 h %	90,0	90,7	90,0	88,8	89,0	90,9	86,8	86,0	88,1	88,3	88,0	91,2	89,0
Déficit de saturation à 8,00 h mb	3,1	2,8	3,0	4,0	3,4	2,7	3,8	4,0	3,6	3,6	3,5	2,7	3,4
Humidité relative à 12,00 h %	74,0	77,3	77,0	72,6	72,3	75,4	71,3	70,8	73,7	75,9	76,1	75,0	74,3
Déficit de saturation à 12,00 h mb	9,8	9,1	8,9	10,4	10,9	9,1	10,4	10,2	9,3	8,6	8,7	9,3	9,6
Humidité relative à 16,00 h %	70,3	78,2	75,7	75,4	74,0	71,9	70,8	73,1	74,1	78,2	76,5	75,0	74,4
Déficit de saturation à 16,00 h mb	11,9	8,3	9,8	9,2	9,8	10,8	10,8	10,8	9,2	7,7	9,2	9,3	9,7
Humidité relative à 19,00 h %	—	91,6	90,8	91,3	92,1	90,4	87,7	90,3	94,4	92,2	91,7	92,0	91,3 (sur 11 mois)
Déficit de saturation à 19,00 h mb	—	2,7	2,9	2,5	2,4	2,9	3,7	2,9	1,7	2,3	2,5	2,4	2,6 (sur 11 mois)

dans la pelouse à *Paspalum* mêlé de *Digitaria*, de la station météo du Beach à Mabali, dans une couche de limon d'environ 2 m. Quatre profondeurs ont été choisies : 5 cm, 10 cm, 20 cm et 50 cm. Les résultats obtenus ne présentent guère de différence d'un mois à l'autre, pour chaque profondeur.

La courbe journalière montre, pour une profondeur de 5 cm, une augmentation de 24° à 32° C atteints vers 15 heures, puis une diminution dans l'après-midi. A 10 cm, l'augmentation est sensible également : de 25° le matin à 30° vers 16 heures. A 20 cm, l'augmentation se marque très peu : de 26°4' à 27°7' vers 17-18 heures. A 50 cm, la température est pratiquement constante : 26°6'.

Ainsi qu'on peut le voir, la température du sol prise le matin, augmente avec la profondeur, de 24° C à 5 cm jusqu'à 26°6' C à 50 cm.

Au *diagramme 2* figure la variation horaire diurne de la température du sol aux quatre profondeurs pendant les deux mois les plus différents de l'année.

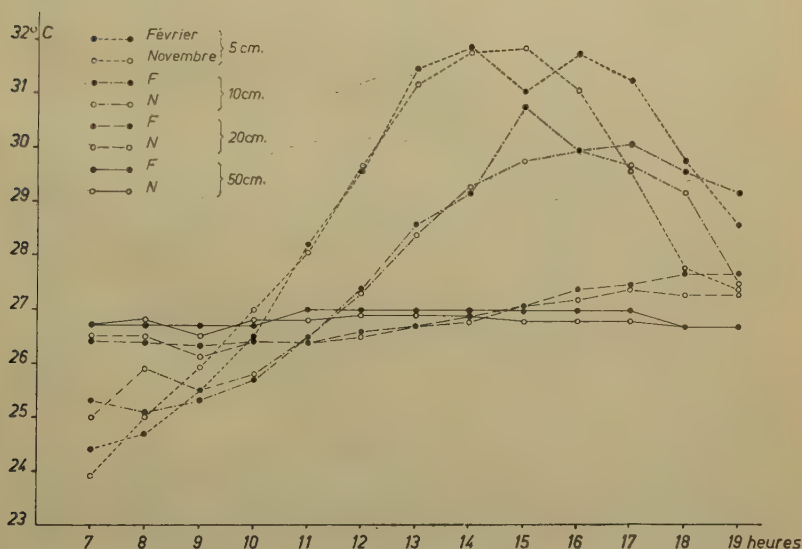


Diagramme 2.

En ce qui concerne le rayonnement, un pyranomètre totalisateur de BELLANI a été installé et nous a permis d'avoir des résultats exprimés en calories grammes par centimètre carré.

Le rayonnement augmente rapidement au cours de la journée pour atteindre son maximum entre 12 et 13 heures (cf. *tableau VII*). Au cours de l'année, il varie mais dans de faibles proportions ; sa valeur moyenne est de 200 calories grammes par centimètre carré et par jour.

Le rayonnement est le plus important en avril-mai et en octobre-novembre ; il présente deux minima en décembre et en juillet. Il est donc minimum en saison sèche et maximum en saison des pluies. La diminution du rayonnement est vraisemblablement causée par la brume caractéristique de la saison sèche masquant les horizons.

Le *diagramme n° 1* reprend les chiffres journaliers du rayonnement au cours des 4 mois (février, mai, août, novembre) les plus caractéristiques à Mabali.

Nous nous sommes également astreints à recueillir quelques informations sur la vitesse du vent, étant donné l'importance de ce facteur sur l'écologie des formations végétales. Nous les avons obtenues à l'aide d'un anémomètre totalisateur de ROBINSON, installé à 2 mètres du sol dans la pelouse météo du Beach.

La vitesse du vent augmente au cours de la matinée, pour arriver à un maximum, vers midi, environ 2,3 mètres par seconde, puis diminue dans l'après-midi. Ce régime est très fréquent dans les régions tropicale et équatoriale (cf. *tableau VII* et *diagramme I*). D'une manière générale, nos observations ne révèlent pas de fluctuations majeures.

A côté de cette allure quotidienne normale, il faut tenir compte des tornades assez fréquentes en période de pluies et essentiellement locales. Leur vitesse n'a pu être établie, faute d'appareils enregistreurs.

Nous n'avons pas encore de données précises au sujet de la direction des vents. Une girouette a été installée à Mabali, mais les résultats obtenus ne couvrent encore qu'une période assez courte.

ROLAND [53], dans une étude cartographique, a distingué les vents principaux et les a désignés sous leur nom indigène :

Tableau VII. — Moyennes mensuelles du rayonnement global journalier à Mabali.

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	11 mois
Cal-g/cm par jour	—	211	179	209	211	194	183	178	191	216	225	199	200

Variation journalière du rayonnement global à Mabali.

Heures	6-7	7-8	8-9	9-10	10-11	11-12	12-13	13-14	14-15	15-16	16-17	17-18	Jour
Cal-g/cm ²	5,4	7,5	17,3	20,3	23,8	23,8	31,3	22,6	22,6	17,3	11,9	5,4	209,2

Variation journalière de la vitesse du vent
à Mabali (Station du Beach).
(Moyenne sur 10 mois).

Heures du jour	6-7	7-8	8-9	9-10	10-11	11-12	12-13	13-14	14-15	15-16	16-17	17-18	18-19
Vitesse du vent en km/heure	4,0	4,2	5,7	6,0	5,9	5,8	8,4	5,7	6,0	5,3	3,9	4,4	3,6

1. Le *Mutaka*, soufflant approximativement Sud-Nord ;
2. Le *Mengembe*, soufflant approximativement Nord-Ouest, Sud-Est ;
3. Le *Nyangana Nkoi*, soufflant approximativement Sud-Ouest, Nord-Est ;
4. Le *Mekitele*, soufflant approximativement Nord-Ouest, Sud-Est ;
5. Le *Lobenge Lungundu*, soufflant approximativement Nord-Sud.

Les trois premiers sont les plus fréquents et les plus importants. Le *Mutaka* souffle régulièrement en période de basses eaux ; le *Mungembe* en période de hautes eaux ; le *Nyangana Nkoi* est plus irrégulier et moins fréquent, mais beaucoup plus violent, il souffle aux hautes eaux.

Les deux autres sont des vents sporadiques et violents souvent accompagnés de tornades.

RÉSUMÉ.

Le climat régional de Mabali peut être caractérisé comme suit :

1° La *pluviosité* annuelle moyenne dépasse 2.000 mm (pour 1954 : 2.101 mm et 1955 : 2.634 mm de moyenne). Les observations que nous avons réalisées ont permis de mettre en évidence l'existence d'une saison sèche qui peut être très accusée :

1954 : juillet	0,4 mm ;
1955 : juillet	29,0 mm ;
1955 : août	43,0 mm ;
1956 : juillet	0,0 mm.

Pendant les autres mois de l'année, la pluviosité est assez régulièrement répartie. La chute journalière maximum est de 152,4 mm ; elle a été enregistrée en mars et mai 1955.

2° La *température* de l'air moyenne annuelle est de 25°8'.

L'amplitude moyenne annuelle est de 8° C ;

Le maximum moyen diurne est de 29°8' C ;

Le minimum moyen nocturne est de $21^{\circ}8'$ C ;

Le maximum diurne absolu est de $36^{\circ}5'$ C ;

Le minimum nocturne absolu est de $18^{\circ}9'$ C.

3^o L'*humidité* relative moyenne est élevée ; elle varie de 89 % à 8 h à 74 % à 12 h et 16 h puis à 91 % à 19 h.

Le déficit de saturation est faible. Il va de 3,4 mb à 8 h à 9,6 mb à 12 et 16 h, et 2,6 mb à 19 h.

Il peut néanmoins atteindre des valeurs très élevées sporadiquement : maximum observé 32,8 mb.

4^o Le *rayonnement* journalier moyen est voisin de 200 cal-g/cm². Il est moins important en saison sèche qu'en saison de pluie.

5^o Le *vent* est quotidien : sa vitesse augmente dans le courant de la matinée jusque vers midi (± 8 km/h) ; il décroît dans l'après-midi.

6^o La *température du sol* est élevée : elle est constante à 50 cm. Les couches supérieures ont des températures variables de $24^{\circ}4'$ C à $31^{\circ}5'$ C. Le maximum se produit généralement vers 16 h pour 5 cm, 10 cm et 20 cm.

Toutes ces caractéristiques sont celles d'un climat équatorial du type Af de KÖPPEN. La seule différence qui apparaisse est l'existence d'une saison sèche très accusée d'un ou deux mois. Les chutes de pluie en régions équatoriales étant un phénomène essentiellement local, il convient d'avoir un plus grand nombre d'années d'observations avant de pouvoir tirer une conclusion valable.

V. Détermination des facteurs microclimatiques.

Afin de nous rendre compte des particularités écologiques qui caractérisent les *esobe* humides et les *esobe* secs, nous avons cherché à mesurer le microclimat de ces deux faciès.

Trois stations microclimatiques ont été établies : l'une dans la partie humide de l'*esobe* de M'Bolo ; l'autre dans la partie sèche du même *esobe*, à 750 mètres de la première ; la troisième à titre de comparaison sous le couvert forestier de la forêt à *Piptade-*

niastrum de la presqu'île de Bwalanga voisine de ce même *esobe*.

Les résultats obtenus dans ces trois stations seront comparés avec ceux de la station officielle de Mabali établie au Beach. Les données générales de cette station ont été précisées dans le chapitre précédent : ils sont considérés comme représentant le climat général de la région de Mabali qui est celui d'une forêt dense, sous l'Équateur en Afrique centrale.

Ces diverses stations comportent un abri dans lequel sont installés :

Des thermomètres sec et humide pour la mesure de l'humidité et du déficit de saturation ;

Des thermomètres à minima et à maxima ;

Un psychrographe ;

Un pyranomètre de BELLANI pour la mesure du rayonnement global ;

Une série de thermomètres pour mesurer la température du sol à 5 cm, 10 cm, 20 cm et 50 cm de profondeur ;

Un pluviomètre.

Les appareils de ces diverses stations ont été réglés en un même endroit les uns par rapport aux autres.

Des mesures sont effectuées trois fois par jour à 8, 12 et 16 heures. Les relevés ont été faits régulièrement et sans interruption pendant une période de 7 mois, du 1^{er} février au 31 août 1956.

Nous avons groupé tous les résultats des quatre stations par quinzaines. Cette manière de présenter les résultats nous paraît beaucoup plus significative que la méthode mensuelle habituelle.

Dans une publication récente, J. MOUREAU [42] a repris certains de nos chiffres et les a commentés en rapport avec les conditions diurnes et nocturnes.

A. A L'EMPLACEMENT DU BEACH.

(Clairière ouverte dans la forêt).

Les observations faites à la station du Beach, déjà données dans le chapitre précédent pour les années 1954 et 1955, ont caractérisé à nos yeux le climat forestier général de Mabali. Afin de pouvoir y comparer celles des stations microclimatiques installées dans divers biotopes du voisinage, nous présenterons ici les chiffres qui y ont été enregistrés pendant les premiers mois de 1956 sous formes de moyennes bimensuelles.

La station du Beach a été ouverte dans la forêt qui couvre la rive du lac Tumba de telle sorte que la clairière est environnée pour une moitié de son périmètre par la forêt et pour l'autre moitié par le lac. Il en résulte que pour certaines données microclimatiques, les mesures faites au Beach sont influencées dans une certaine mesure par la présence d'une importante nappe d'eau.

a) *Température.*

Dans la période figurant au *tableau IX*, la température moyenne bimensuelle de l'air a été de 25°9' variant entre 24°7' et 27°2'. La température maximum moyenne a été de 30° variant entre 28°1' et 31°9'. La température minimum moyenne a été de 21°9'; elle a varié entre 21°3' et 22°4'. Les maxima et minima absolus observés ont été respectivement de 36° et 19°.

b) *Humidité relative et déficit de saturation.*

A 8 heures, pour une température moyenne variant entre 22°7' et 24°8', (moyenne 23°8'), l'humidité relative a oscillé entre 86 et 93 % (moyenne 90 %) et le déficit de saturation entre 2,0 et 4,1 mb (moyenne 2,9) ;

A 12 heures, la température s'est élevée entre 26°6' et 29°6' (moyenne 28°3'), l'humidité relative s'est abaissée entre 70 et 79,8 % (moyenne 74 %) et le déficit de saturation a atteint des valeurs comprises entre 4,6 et 12,2 mb (moyenne 10) ;

A 16 heures, pour une température comprise entre 27°6' et 31°2' (moyenne 28°9') ; l'humidité relative s'est maintenue entre

Tableau VIII. — Valeurs moyennes bimensuelles et sur 7 mois
(Pelouse à *Paspalum* dans une clairière

Moyennes bimensuelles		FÉVRIER		MARS		AVRIL	
Température maximum	°C	31,7	31,2	31,9	30,4	31,4	29,8
Température minimum	°C	21,3	21,9	22,4	22,1	22,3	22,1
Température moyenne	°C	26,5	26,5	27,2	26,3	26,8	25,9
Pluviosité totale	mm	127,4	63,6	54,0	57,4	48,9	35,6
A 8 heures							
Température sèche	°C	23,6	24,1	24,8	24,4	24,4	24,0
Humidité relative	%	91,0	90,0	89,0	90,0	90,0	92,0
Déficit de saturation	mb	2,9	3,1	3,5	3,1	3,1	2,4
A 12 heures							
Température sèche	°C	28,8	29,3	29,7	29,0	29,6	28,0
Humidité relative	%	71,0	71,0	70,0	72,0	71,0	75,0
Déficit de saturation	mb	11,3	11,6	12,2	11,0	11,7	9,3
A 16 heures							
Température sèche	°C	31,2	29,6	29,3	29,1	29,6	28,2
Humidité relative	%	63,0	71,0	72,0	71,0	68,0	75,0
Déficit de saturation	mb	16,2	19,7	10,8	11,4	12,9	9,4
Maximum absolu	°C	34,5	34,5	36,0	34,8	35,0	33,6
Minimum absolu	°C	19,0	20,0	20,6	19,7	20,6	20,4
Rayonnement total cal-g/cm² total par jour		245,0	232,0	243,0	218,0	233,0	220,0
Température du sol °C							
à 5 cm	08 h	24,5	25,4	25,8	25,5	26,1	25,5
	12 h	29,1	29,1	29,8	29,6	29,8	29,0
	16 h	31,1	30,5	31,5	30,0	30,4	29,7
à 10 cm	08 h	24,8	25,9	26,2	26,2	26,6	26,0
	12 h	27,0	27,6	28,1	28,0	29,0	27,8
	16 h	29,5	28,9	30,0	29,1	29,3	28,8
à 20 cm	08 h	26,0	27,0	27,0	27,0	27,7	27,0
	12 h	26,2	27,1	27,3	27,2	27,1	27,0
	16 h	27,1	27,7	28,0	27,4	28,1	27,5
à 50 cm	08 h	26,7	27,4	27,6	27,6	28,0	27,4
	12 h	26,7	27,5	27,8	27,7	28,1	27,5
	16 h	26,8	27,4	27,7	27,5	28,0	27,4

des principaux facteurs microclimatiques de la station du Beach ouverte en forêt) (Février à août 1956).

MAI		JUIN		JUILLET		Août		Moyenne sur 7 mois
30,8	30,3	29,5	29,5	28,3	28,1	28,5	28,8	30,0
22,5	21,5	21,6	22,0	22,1	21,3	21,7	21,7	21,9
26,6	26,0	25,5	25,8	25,2	24,7	25,1	25,2	25,9
35,9	80,7	54,1	15,9	0,0	0,0	4,0	70,9	
24,4	23,9	23,5	23,8	23,5	22,7	23,1	23,6	23,8
90,0	93,0	93,0	90,0	86,0	89,0	93,0	88,0	90,0
3,1	2,1	2,3	2,9	4,1	3,1	2,0	3,5	2,9
29,3	28,4	27,7	28,4	27,1	27,0	26,6	27,3	28,3
73,0	73,0	76,0	71,0	70,0	79,0	87,0	72,0	74,0
10,8	10,2	8,8	11,0	10,6	7,4	4,6	10,1	10,0
28,5	29,4	29,1	29,2	27,6	27,6	27,8	28,4	28,9
75,0	69,0	70,0	67,0	71,0	79,0	86,0	68,0	72,0
10,3	12,5	11,8	13,0	10,6	7,7	5,2	12,2	11,7
33,2	33,2	32,5	31,5	31,0	29,4	30,5	31,7	
20,2	20,4	20,5	20,8	21,3	19,4	20,0	19,2	
222,0	230,0	200,0	216,0	207,0	198,0	183,0	202,0	218,0
25,5	25,3	25,0	25,1	24,7	24,4	24,7	24,4	25,1
29,5	28,0	26,9	29,0	28,9	29,2	29,1	29,4	29,0
29,7	28,7	28,0	30,3	30,0	30,2	30,3	30,0	30,0
26,0	25,8	25,6	25,5	25,3	25,1	25,1	24,9	25,6
27,8	27,1	26,4	27,3	26,8	26,7	26,8	27,2	27,4
28,8	28,1	27,3	28,8	28,7	28,5	28,2	29,1	28,8
27,1	26,7	26,5	26,5	26,4	26,1	26,3	26,1	26,6
27,2	26,8	25,5	26,6	26,5	26,2	26,2	26,2	26,6
27,6	27,1	25,7	25,9	26,7	26,5	26,5	26,8	27,0
27,3	27,2	26,9	26,7	26,6	26,4	26,5	26,4	27,0
27,6	27,4	27,0	26,9	26,8	26,6	26,6	26,6	27,2
27,4	27,3	27,1	26,8	26,6	26,5	26,4	26,5	27,1

63 et 86 % (moyenne 72 %) et le déficit de saturation entre 5,2 et 19,7 mb (moyenne 11,7).

Tous les résultats sont reportés au *tableau VIII*.

c) *Pluviosité.*

Les quantités d'eau tombées figurant au *tableau VIII*. En 7 mois, il est tombé 648,4 mm, pendant le mois de juillet, aucune précipitation n'a été enregistrée.

d) *Rayonnement.*

La valeur moyenne sur la période observée a été de 218 cal-g/cm² par jour. Mensuellement, elle a varié de 183 à 245 cal-g/cm² par jour. Ce rayonnement est le plus considérable que nous ayons enregistré dans toutes les stations. Il est probable que la situation de la pelouse réglementaire de la station générale en bordure du lac est responsable de cette différence par la réverbération des eaux. Un minimum peu accusé s'est manifesté en août (période sèche) : 183 cal-g/cm² par jour.

e) *Température du sol.*

Les mesures sont faites aux quatre profondeurs de 5, 10, 20 et 50 centimètres dans du limon sous *Paspalum* (cf *tableau VIII*).

A 5 centimètres, la température moyenne bimensuelle du sol a varié de 25°1' à 8 heures à 29°0, à 12 heures et à 30°0' à 16 heures. A 10 centimètres, elle est passée de 25°6' à 8 heures à 27°4' à 12 heures et à 28°8' à 16 heures. A 20 centimètres, elle a varié de 26°5' à 8 et 12 heures à 27°0' à 16 heures. A 50 centimètres, elle est restée presque constante : 27°0' à 8 heures, 27°2' à 12 heures et 27°1' à 16 heures.

A toutes les profondeurs, l'évolution de la température suit des courbes parallèles. Il existe dans le sol une inversion thermique au cours de la journée : le matin et le soir, le degré de température augmente avec la profondeur, l'inverse a lieu pendant la journée.

La variation de la température à très faible profondeur est importante.

B. DANS LES *ESOBES*.1. *Esobe humide*. (Voir *tableau IX*).

La station de l'*esobe* humide a été installée dans l'*esobe* de Mbolo, parmi les plantes de l'association à *Bulbostylis*, sous-association à *Selaginella* (voir plus loin la définition de cette association).

a) *Température de l'air*.

La température moyenne bimensuelle a oscillé entre 23°3' et 26°, la moyenne générale a été de 24°7'. La température maximum bimensuelle moyenne varie entre 28°5' et 32°2'; la moyenne générale a été 30°4'; la température minimum moyenne générale a été de 19°4', entre des valeurs de 17°8' à 20°7' C.

Les maxima et minima absolus observés ont été respectivement de 35°5' et 16°.

b) *Humidité et déficit de saturation*.

Les mesures faites à différents moments de la journée nous ont permis de calculer l'humidité relative de l'air et le déficit de saturation.

A 8 heures, pour une température comprise entre 22°8' et 25°1' (moyenne 24°2'), l'humidité a varié entre 83 et 91 % (moyenne 86 %), le déficit de saturation entre 2,7 et 5,1 mb (moyenne 4,0 mb).

A 12 heures, pour une température variant entre 26°9' et 29°8' (moyenne 28°3'), l'humidité fut comprise entre 66 et 76 % (moyenne 70 %), le déficit de saturation entre 9,2 et 14,0 mb (moyenne 11,3 mb).

A 16 heures, pour une température comprise entre 27°6' et 30°3' (moyenne 28°9'), l'humidité a varié entre 63 et 71 % (moyenne 68 %), le déficit de saturation entre 10,6 et 15,6 mb (moyenne 12 mb).

c) *Pluviosité*.

Les hauteurs d'eau recueillies de 15 en 15 jours figurent au *tableau IX*. Elles sont inférieures à celles du Beach : *esobe* humide

Tableau X. — Valeurs moyennes bimensuelles et sur de la station de l'*esobe*

Moyennes mensuelles	FÉVRIER		MARS		AVRIL	
Température maximum °C	31,4	31,2	32,2	31,3	31,8	30,6
Température minimum °C	19,3	19,7	20,0	20,0	20,2	20,7
Température moyenne °C	25,3	25,5	26,0	23,8	26,0	25,6
Pluviosité totale mm	141,4	22,8	18,9	33,2	35,1	46,5
<i>A 8 h</i>						
Température sèche °C	23,8	24,0	25,0	24,4	24,4	24,5
Humidité relative %	88,0	88,0	86,0	89,0	89,0	88,0
Déficit de saturation mb	3,6	3,6	4,4	3,3	3,3	3,7
<i>A 12 h</i>						
Température sèche °C	29,0	28,8	29,4	28,5	29,8	28,1
Humidité relative %	67,0	70,0	68,0	70,0	66,0	72,0
Déficit de saturation mb	12,9	11,7	12,8	11,4	14,0	10,5
<i>A 16 h</i>						
Température sèche °C	30,2	29,0	30,3	29,8	29,9	28,3
Humidité relative	63,0	69,0	64,0	66,0	66,0	71,0
Déficit de saturation mb	15,6	12,1	15,2	14,0	14,1	11,0
Maximum absolu °C	34,5	34,0	35,5	34,5	33,5	33,5
Minimum absolu °C	17,0	18,0	18,5	18,5	18,5	19,5
Rayonnement total Cal-g/cm ² total/jour	209,0	191,0	205,0	185,0	195,0	184,0
Température du sol						
A 5 cm à	8 h	23,8	24,5	24,6	24,5	25,1
	12 h	29,5	30,2	30,3	30,3	—
	16 h	31,4	30,8	31,2	31,4	—
A 10 cm à	8 h	24,6	25,2	25,2	25,0	25,6
	12 h	25,9	28,2	28,1	28,5	29,2
	16 h	28,8	29,0	29,7	29,7	29,2
A 20 cm à	8 h	25,4	26,0	26,1	26,0	26,5
	12 h	25,3	27,1	27,1	27,3	28,1
	16 h	27,9	27,6	27,6	28,0	29,9
A 50 cm à	8 h	26,0	26,6	26,4	26,5	27,2
	12 h	25,9	26,4	25,7	26,9	27,6
	16 h	25,9	26,4	27,4	27,3	27,8

7 mois des principaux facteurs microclimatiques
humide (Février et août 1956).

MAI		JUIN		JUILLET		Août		Moyenne sur 7 mois
31,3	30,8	29,8	30,0	28,5	28,7	29,1	29,3	30,4
19,8	19,6	19,6	19,2	18,6	17,8	18,5	19,0	19,4
25,6	25,1	24,7	24,6	23,5	23,3	23,8	24,2	24,7
20,9	82,6	44,8	18,1	0,0	0,0	8,5	39,2	
25,1	25,0	24,2	24,5	23,7	22,8	23,2	24,2	24,2
88,0	85,0	91,0	85,0	84,0	85,0	83,0	83,0	86,0
3,9	4,8	2,7	4,5	4,7	3,6	4,8	5,1	4,0
29,3	28,7	28,2	29,3	27,1	26,9	26,9	27,3	28,3
71,0	68,0	76,0	71,0	72,0	74,0	71,0	68,0	70,0
12,0	12,4	9,4	11,0	10,0	9,2	10,2	11,6	11,3
29,0	29,3	29,0	29,1	27,6	27,8	28,3	27,8	28,9
71,0	68,0	71,0	68,0	71,0	71,0	66,0	68,0	68,0
11,4	12,8	11,4	12,6	10,6	10,6	12,9	11,8	12,6
33,0	34,0	32,5	32,0	31,0	30,0	30,5	32,0	
18,5	18,0	18,0	17,0	17,0	16,0	16,0	17,0	
191,0	190,0	167,0	179,0	166,0	166,0	155,0	163,0	182,0
24,5	24,4	24,1	23,8	22,9	22,6	22,7	23,5	24,0
30,8	29,5	29,0	29,1	27,7	28,1	27,6	28,5	29,2
31,8	30,3	30,1	30,1	28,4	28,9	29,1	29,3	30,2
25,0	24,0	24,8	24,3	23,8	23,4	23,3	24,1	24,5
28,8	27,3	27,3	27,1	26,4	26,6	26,6	27,0	27,5
29,5	28,3	28,5	28,2	27,1	27,1	27,4	27,8	28,5
25,9	25,8	25,4	25,1	24,6	24,2	24,3	24,7	25,4
27,1	27,1	26,5	26,2	25,5	25,8	25,9	26,1	26,6
28,1	25,1	27,7	25,0	25,9	26,2	26,3	26,6	27,0
26,5	26,3	26,1	25,9	25,3	25,1	24,8	25,2	26,1
26,5	26,5	26,1	26,1	25,3	25,1	24,8	25,2	26,2
26,7	26,7	26,9	26,4	25,5	25,1	24,8	25,2	26,3

512 mm, Beach 648 mm. Aucune précipitation n'a été enregistrée pendant le mois de juillet dans l'*esobe* humide tout comme au Beach.

d) *Rayonnement.*

La quantité globale moyenne de calories-grammes reçues par centimètre carré et par jour grâce au pyranomètre de BELLANI a été de 182 cal-g/cm².

Elle a varié entre 155 et 209 cal-g/cm²/jour.

Pendant les deux saisons sèches de janvier et juillet-août, la quantité de calories reçues a été moindre que pendant les saisons pluvieuses.

e) *Température du sol.*

Les mesures ont été faites à 4 niveaux : 5, 10, 20 et 50 cm de profondeur.

Les thermomètres plongent dans la tourbe aux profondeurs de 5, 10 et 20 cm, et à 50 cm, dans le sable blanc.

À 5 centimètres de profondeur, la température moyenne bimensuelle a varié de 24° C à 8 heures à 29°2' à 12 heures et 30°2' à 16 heures ; à 10 centimètres de 24°5' à 8 heures à 27°5' à 12 heures et 28°5' à 16 heures ; à 20 centimètres de 25°4' à 8 heures à 26°6' à 12 heures et 27°0' à 16 heures ; à 50 centimètres de 26°1' à 8 heures à 26°2' à 12 heures et à 26°3' à 16 heures.

La même inversion thermique se produit au cours de la journée, mais de manière moins accusée qu'à la station du Beach.

À la profondeur de 50 centimètres, la température est restée pratiquement constante : elle n'a varié que de 0°3' en moyenne.

2. *Esobe sec (Tableau X).*

La station de l'*esobe* sec a été installée dans l'association à *Hyparrhenia diplandra* sur le haut du versant orienté Est-Ouest de l'*esobe* de M'Bolo.

a) *Température de l'air.*

La température moyenne bimensuelle, calculée sur les 7 mois d'observation, a été de 25°5' ; elle a varié de 23°9' à 26°7'. Elle est très comparable à celle de l'*esobe* humide : 24°7' obtenue sur

les 7 mois correspondants. La température maximum moyenne a été de $30^{\circ}8'$, elle a oscillé entre $32^{\circ}9'$ et $29^{\circ}0'$. La température minimum moyenne a été de 20° , elle a varié entre $18^{\circ}5'$ et $20^{\circ}9'$; elle a été légèrement supérieure à celle de l'*esobe* humide. Les maxima et minima absolus observés ont été respectivement de 36° et 17° .

b) *Humidité relative et déficit de saturation.*

L'humidité relative et le déficit de saturation ont été calculés d'après les observations faites à 8, 12 et 16 heures.

A 8 heures, pour une température comprise entre $22^{\circ}9'$ et $25^{\circ}3'$ (moyenne $24^{\circ}3'$), l'humidité relative atteint 84 à 90° (la moyenne étant 86 %) le déficit de saturation 3,1 à 4,8 mb (moyenne 4,1 mb).

A 12 heures, l'humidité relative a été de 66 à 73 % (moyenne 69 %) pour une température comprise entre $27^{\circ}4'$ et 30° (moyenne $28^{\circ}6'$), le déficit de saturation entre 10,1 et 14,1 mb (moyenne 12 mb).

A 16 heures, pour une température comprise entre $28^{\circ}0'$ et $30^{\circ}8'$ (moyenne $28^{\circ}7'$) l'humidité relative a atteint sa valeur minimum 61 à 71 % (moyenne 67 %) ; le déficit de saturation sa valeur maximum 11 à 16,8 mb (moyenne 13,4 mb).

Dans les chiffres que nous venons de rappeler, il y a en somme assez peu de différences entre l'*esobe* sec et l'*esobe* humide (il s'agit de moyennes) : on constate que le déficit de saturation est à son maximum dans l'*esobe* sec pendant la petite saison sèche dans les heures méridiennes ; il en est de même dans l'*esobe* humide.

c) *Pluviosité.*

Les quantités d'eau recueillies dans l'*esobe* sec pendant les 7 mois considérés se sont chiffrées par 524,2 mm avec un mois de juillet absolument sans pluie.

Cette valeur est fort voisine de celle obtenue en *esobe* humide (512 mm) mais différente de la moyenne climatique du Beach (648 mm).

d) *Rayonnement.*

Les valeurs moyennes journalières recueillies pendant les 7 mois d'observation de l'année 1956 sont comprises entre

Tableau X. — Valeurs moyennes bimensuelles et sur de la station de l'*esobe* sec.

Moyenne bimensuelle		FÉVRIER		MARS		AVRIL	
Température maximum °C		31,6	31,7	32,9	30,3	32,4	30,2
Température minimum °C		20,0	20,3	20,5	20,4	20,9	20,9
Température moyenne °C		25,8	26,0-	26,7	26,0	26,7	25,9
Pluviosité totale mm		125,0	15,3	19,9	34,3	34,8	46,6
<i>A 8 h</i>							
Température sèche °C		24,1	24,4	25,3	24,6	24,7	24,6
Humidité relative %		88,0	86,0	86,0	87,0	86,0	87,0
Déficit de saturation mb		3,6	4,3	4,5	4,0	4,4	4,0
<i>A 12 h</i>							
Température sèche °C		29,2	29,0	30,0	28,7	30,0	28,2
Humidité relative %		66,0	68,0	66,0	70,0	66,0	71,0
Déficit de saturation mb		13,4	12,6	14,1	11,6	14,1	10,9
<i>A 16 h</i>							
Température sèche °C		30,8	29,6	30,4	30,0	30,4	28,4
Humidité relative %		61,0	68,0	65,0	64,0	63,0	71,0
Déficit de saturation mb		16,8	12,9	14,8	14,8	15,7	11,0
Maximum absolu °C		34,5	34,5	36,0	36,0	35,5	33,5
Minimum absolu °C		17,0	18,0	19,0	18,5	19,0	20,0
Rayonnement total cal-g/cm ² total par jour		214,0	205,0	218,0	197,0	208,0	192,0
Température du sol °C							
<i>A 5 cm</i>	8 h	24,6	25,3	26,0	25,6	26,1	25,4
	12 h	30,7	30,8	31,5	33,9	32,4	30,9
	16 h	32,7	31,7	32,4	32,6	33,3	31,6
<i>A 10 cm</i>	8 h	24,7	25,6	26,1	25,7	26,4	25,7
	12 h	28,5	29,7	29,6	29,3	30,4	28,9
	16 h	31,0	30,4	31,1	30,3	31,5	30,0
<i>A 20 cm</i>	8 h	25,3	26,5	27,0	26,7	27,5	26,8
	12 h	26,5	27,9	28,0	27,5	29,4	27,6
	16 h	28,7	28,7	29,1	28,4	29,8	28,7
<i>A 50 cm</i>	8 h	26,2	27,5	27,8	27,4	28,2	27,7
	12 h	26,3	27,6	27,7	27,4	28,3	27,7
	16 h	26,3	27,5	28,0	27,8	28,5	27,7

7 mois des principaux facteurs microclimatiques
(Février à août 1956).

MAI		JUIN		JUILLET		Août		Moyenne sur 7 mois
31,9	31,5	30,4	30,9	29,0	29,3	30,2	30,1	30,8
20,7	20,3	20,1	19,8	19,3	18,5	19,2	20,0	20,0
26,3	25,9	25,2	25,3	24,2	23,9	24,7	25,0	25,5
29,7	78,3	51,4	27,5	0,0	0,0	7,2	54,4	
25,2	24,9	24,2	24,6	23,7	22,9	23,3	24,1	24,3
87,0	86,0	90,0	86,0	85,0	87,0	85,0	84,0	86,0
4,1	4,4	3,1	4,3	4,4	3,6	4,2	4,8	4,1
29,7	28,9	28,2	28,7	27,4	27,5	27,5	27,7	28,6
69,0	70,0	73,0	70,0	69,0	70,0	68,0	67,0	69,0
12,6	11,7	10,1	11,6	11,2	10,9	11,5	12,1	12,0
29,6	29,8	29,4	29,3	28,0	28,0	28,9	28,2	28,7
68,0	67,0	69,0	68,0	68,0	70,0	64,0	68,0	67,0
12,9	13,7	12,4	12,8	12,0	11,2	14,1	12,1	13,4
34,0	34,5	34,0	33,0	31,5	31,0	32,0	33,5	
19,0	19,0	19,0	17,5	18,0	17,0	17,0	18,5	
198,0	198,0	174,0	189,0	170,0	174,0	164,0	175,0	191,0
25,8	25,3	25,2	25,2	24,6	24,3	24,7	24,9	25,2
32,2	30,4	29,8	30,3	29,3	29,3	29,6	29,5	30,7
32,3	31,0	30,9	31,8	30,1	29,9	30,3	30,7	30,9
25,9	25,5	25,5	25,3	24,9	24,9	25,2	25,2	25,4
30,0	28,8	28,0	28,5	27,7	27,8	27,5	28,0	28,7
30,6	29,7	29,5	30,0	28,5	28,5	28,2	29,3	29,9
26,9	26,5	26,4	26,2	27,0	25,7	26,3	26,3	26,4
28,2	27,2	28,2	26,9	27,6	26,7	26,7	27,0	27,4
29,1	28,2	28,2	27,9	27,1	27,2	27,2	27,8	28,3
28,1	27,7	27,6	27,5	27,1	27,0	27,2	27,2	27,4
28,2	27,7	27,7	27,3	27,1	27,0	27,2	27,2	27,4
28,2	27,8	27,4	27,3	27,1	27,0	27,1	27,2	27,5

218 cal-g/cm²/jour et 164, avec une moyenne de 191. Le rayonnement est donc plus important dans l'*esobe* sec que dans l'*esobe* humide (180), mais les variations saisonnières sont parallèles. Le minimum du rayonnement s'est présenté de part et d'autre au moment de la grande saison sèche.

e) *Température du sol.*

Les mesures ont été faites aux quatre profondeurs habituelles dans le limon. Les résultats sont repris au *tableau X*. Ils expriment les moyennes bimensuelles pendant les 7 mois d'observation et une moyenne générale. Considérant cette dernière valeur, on observe qu'à 5 centimètres, la température du sol a varié de 25°2' à 8 heures à 30°7' à 12 heures et à 30°9' à 16 heures ; à 10 centimètres, cette température a été de 25°4' à 8 heures, 29°7' à 12 heures et 29°9' à 16 heures ; à 20 centimètres la température est passée de 26°4' à 8 heures à 27°4' à 12 heures et 28°3' à 16 heures ; à 50 centimètres, elle a été pratiquement constante : 27°4' à 8 et 12 heures et 27°5' à 16 heures.

Tout comme dans les autres biotopes, la même inversion de température existe quand on examine les heures du matin, de midi et de l'après-midi ; c'est à 50 cm que le sol est le plus chaud le matin par rapport à la surface. Il garde de toute manière une température constante pendant la journée et peu fluctuante au cours de l'année. Février, peut-être janvier, correspondent à la période où ce niveau est le plus froid. De midi à 16 heures, la surface du sol devient très chaude, elle atteint à 5 cm, environ 34° C en mars-avril.

La température aux diverses profondeurs du sol a été plus forte pendant la saison des pluies qu'en saison sèche.

C. DANS LA FORÊT DE TERRE FERME.

La station est située dans le sous-bois de la forêt de terre ferme de la presqu'île de Bwalanga dans son faciès le plus dense à *Entandrophragma* et *Staudtia*.

a) *Température.*

Pendant les 7 mois d'observations, la température moyenne globale de l'air a été de 24°6' ; elle a peu varié : de 24° à 25°3'.

La température maximum moyenne a été de $27^{\circ}8'$; elle a varié entre $27^{\circ}1'$ et $28^{\circ}9'$ (le maximum absolu observé 32°). La température minimum moyenne a été de $21^{\circ}2'$, elle a oscillé entre $20^{\circ}5'$ et $21^{\circ}6'$ (le minimum absolu observé $18^{\circ}7'$).

Les variations sont faibles, elles indiquent que, sous le couvert forestier, il y a une grande stabilité thermique (*Tableau XI*).

b) *Humidité relative et déficit de saturation.*

A 8 heures, pour une température variant entre $22^{\circ}0'$ et $23^{\circ}5'$ (moyenne $22^{\circ}8'$), l'humidité relative fut comprise entre 90 et 98 %, la moyenne générale a été de 95 %. Le déficit de saturation a varié entre 0,5 et 2,7 mb (moyenne 1,4 mb).

A 12 heures, pour une température variant entre $25^{\circ}3'$ et $27^{\circ}2'$ (moyenne $26^{\circ}1'$) l'humidité relative a atteint 76 à 89 % avec une moyenne de 84 %. Le déficit de saturation a été de 3,6 à 7,8 mb (moyenne 5,5 mb).

A 16 heures, pour une température comprise entre $25^{\circ}8'$ et $27^{\circ}5'$ (moyenne $26^{\circ}8'$) l'humidité relative a varié entre 76 et 88 % (moyenne 83 %), le déficit de saturation entre 4,2 et 8,5 mb (moyenne 6,2 mb).

Les valeurs de l'humidité relative sont nettement plus élevées que dans les autres stations : celles du déficit de saturation sont par contre beaucoup plus basses.

Ces observations sont reportées au *tableau XI*.

c) *Pluviosité.*

L'allure de la pluviosité est la même que celle relevée à la station générale du Beach, mais les quantités d'eau recueillies sont moindres (en 7 mois : 511,5 mm).

Le fait qu'il y ait moins d'eau dans le pluviomètre sous les arbres implique qu'une partie de l'eau de pluie est retenue par les feuilles, absorbée par celles-ci ou évaporée par leur surface ou encore qu'elle a ruisselé le long des troncs. Le sol subit donc une perte d'eau que nous n'avons pas pu évaluer exactement.

d) *Rayonnement.*

La valeur moyenne annuelle a été de $13,2 \text{ cal-g/cm}^2$ par jour. Le rayonnement atteignant le sol au travers des strates

Tableau XI. — Valeurs moyennes bimensuelles et sur 7 mois
bois de la forêt de terre ferme

Moyenne bimensuelle		FÉVRIER		MARS		AVRIL	
Température maximum	°C	27,6	28,0	28,9	27,7	28,5	27,4
Température minimum	°C	20,5	21,2	21,6	21,4	21,4	21,5
Température moyenne	°C	24,0	24,6	25,3	24,6	25,0	24,5
Pluviosité totale	mm	106,7	55,0	37,9	51,3	41,3	31,5
<i>A 8 h</i>							
Température sèche	°C	22,0	22,8	23,5	23,2	23,3	23,0
Humidité relative	%	98,0	95,0	94,0	95,0	96,0	96,0
Déficit de saturation	mb	0,5	1,3	1,7	1,5	1,2	1,2
<i>A 12 h</i>							
Température sèche	°C	25,9	26,7	27,2	26,0	26,9	26,0
Humidité relative	%	86,0	84,0	82,0	87,0	82,0	86,0
Déficit de saturation	mb	4,7	5,6	6,4	4,7	6,0	4,7
<i>A 16 h</i>							
Température sèche	°C	27,1	27,1	27,5	27,2	27,5	25,8
Humidité relative	%	84,0	83,0	78,0	83,0	79,0	87,0
Déficit de saturation	mb	5,7	6,0	8,0	6,7	7,6	4,3
Maximum absolu	°C	30,5	30,8	31,5	31,1	32,0	31,0
Minimum absolu	°C	18,7	19,9	20,5	19,2	20,2	20,2
Rayonnement total cal-g/cm ² total par jour		13,4	11,6	12,5	13,4	13,4	11,6
Température du sol							
A 5 cm	8 h	22,6	23,3	23,8	23,5	25,7	24,2
	12 h	23,9	24,7	25,2	24,4	25,2	25,3
	16 h	25,1	25,8	26,8	25,7	26,2	26,1
A 10 cm	8 h	22,8	23,5	24,0	23,7	24,0	23,9
	12 h	23,2	23,9	24,5	24,1	24,5	24,5
	16 h	24,1	24,7	25,6	24,8	25,3	24,3
A 20 cm	8 h	23,4	24,2	24,6	24,4	24,8	24,6
	12 h	23,4	24,2	24,6	24,3	24,7	24,5
	16 h	23,6	24,3	24,6	24,5	24,9	24,8
A 50 cm	8 h	23,8	24,4	24,8	24,6	25,0	24,8
	12 h	23,6	24,4	24,9	24,7	25,1	24,8
	16 h	23,8	24,5	24,8	24,7	25,0	25,0

des principaux facteurs microclimatiques de la station du sous-
(Février à août 1956).

MAI		JUIN		JUILLET		Août		Moyenne sur 7 mois
28,5	28,0	27,6	27,0	27,1	27,5	27,9	28,6	27,8
21,6	21,1	21,1	21,5	21,4	20,9	20,9	21,1	21,2
25,0	24,6	24,4	24,7	24,2	24,2	24,4	24,8	24,6
17,3	50,4	44,2	13,7	0,0	0,0	1,0	61,2	
23,3	22,9	22,6	22,8	22,5	22,1	22,3	22,8	22,8
96,0	98,0	96,0	95,0	95,0	92,0	90,0	92,0	95,0
1,2	0,5	1,2	1,3	1,4	2,1	2,7	2,3	1,4
26,8	26,0	25,6	26,1	25,3	25,3	25,3	26,2	26,1
85,0	87,0	87,0	83,0	89,0	80,0	79,0	76,0	84,0
5,2	4,3	4,5	5,7	3,6	6,4	6,8	7,8	5,5
27,0	26,7	26,4	27,0	26,5	26,3	26,4	27,0	26,8
85,0	84,0	86,0	80,0	88,0	80,0	80,0	76,0	83,0
5,3	5,6	4,9	7,1	4,2	6,8	6,8	8,5	6,2
31,5	31,5	30,5	29,5	29,0	29,0	30,2	31,0	
20,0	20,0	20,1	19,5	20,8	20,2	19,2	19,2	
13,4	11,6	12,5	12,5	13,4	14,2	15,1	16,0	13,2
23,7	23,5	23,3	23,3	23,2	22,9	23,2	23,2	23,5
26,0	25,6	24,1	25,8	24,9	24,7	24,3	25,1	24,9
26,9	25,6	26,4	27,4	26,3	25,8	25,9	26,8	26,2
24,0	23,8	23,6	24,0	22,7	23,3	23,4	23,7	23,6
24,6	24,4	24,1	24,6	24,2	23,6	23,7	24,0	23,9
25,4	25,2	25,1	25,5	24,9	24,5	24,4	25,2	24,9
24,8	24,6	24,4	24,6	24,4	24,0	24,2	24,3	24,4
24,8	24,6	24,4	24,6	24,4	24,0	24,2	24,3	24,4
24,9	24,7	24,6	24,7	24,4	24,2	24,2	24,5	24,5
25,0	25,0	24,9	24,8	24,7	24,8	24,5	24,5	24,7
25,1	25,0	24,9	24,9	24,7	24,5	24,6	24,6	24,7
25,1	25,0	24,9	24,9	24,6	24,5	24,6	24,6	24,7

arborescentes superposées est très faible et les variations en sont peu importantes.

Ce rayonnement est beaucoup moins important que celui qui existe en moyenne dans les *esobe* humide et sec respectivement : 180 cal-g/cm² et 191 cal-g/cm² et au Beach 214 cal-g/cm².

L'on ne trouve guère dans la littérature de chiffres précisant les valeurs du rayonnement en sous-bois par rapport à des situations de végétations ouvertes. Évidemment, les valeurs basses du rayonnement en sous-bois doivent avoir une influence considérable sur la végétation.

e) *Température du sol.*

Les mesures ont été faites aux quatre profondeurs habituelles 5, 10, 20 et 50 cm dans le limon (*Tableau XI*).

A 5 centimètres de profondeur, la température a varié de 23°5' à 8 heures, à 24°9' à 12 heures et 26°2' à 16 heures. A 10 centimètres, de 23°6' à 8 heures, à 23°9' à 12 heures et à 24°9' à 16 heures. A 20 centimètres, de 24°4' à 8 et 12 heures et à 24°5' à 16 heures. A 50 centimètres, 24°7' à 8, 12 et 16 heures ; la température est constante.

D. COMPARAISON DES STATIONS ENTRE ELLES.

1° *Entre l'esobe humide et l'esobe sec.*

Les observations établies pendant 7 mois montrent des moyennes bimensuelles de la température de l'air de 24°7' et de 25°5' respectivement, des maxima bimensuels moyens de 30°4' et 30°8', des maxima absolus de 35°5' et 36°, des minima moyens de 19°4' et 20°, des minima absolus de 16° et 17°. L'amplitude des variations a été de 11° pour l'*esobe* humide et 10°8' pour l'*esobe* sec.

La température de l'air de l'*esobe* humide est toujours plus fraîche que celle de l'*esobe* sec bien que les différences soient faibles et ne dépassent jamais 1° C.

En ce qui concerne l'humidité relative et le déficit de saturation :

A 8 heures, dans l'*esobe* humide : 86 % d'humidité relative et 4,0 mb de déficit de saturation ; dans l'*esobe* sec 86 % d'humidité et 4,1 mb de déficit de saturation.

A 12 heures : 70 % et 11,3 mb dans l'*esobe* humide contre 69 % et 12 mb dans le sec.

A 16 heures : 68 % et 12,6 mb dans l'*esobe* humide et 67 % et 13,4 mb dans le sec.

La variation des trois facteurs : température de l'air, humidité relative et déficit de saturation est semblable dans les deux types d'*esobe* ; le déficit de saturation atteint des valeurs plus fortes dans l'*esobe* sec.

Les précipitations sont de même ordre dans les deux biotopes : 512 mm pour l'*esobe* humide et 524 mm dans l'*esobe* sec. Tout au plus, peut-on remarquer une pluviosité très légèrement supérieure dans l'*esobe* sec. Nous négligerons cette différence qui n'atteint pas 5 % et qui pourrait être considérée comme erreur imputable aux appareils.

La moyenne générale des valeurs du rayonnement est de 182 cal-g/cm² dans l'*esobe* humide et de 191 cal-g/cm² dans le sec. La variation moyenne des valeurs mensuelles du rayonnement est identique dans les deux biotopes ; les quantités de cal-g/cm² reçues sont légèrement inférieures dans l'*esobe* humide. Ceci semble être dû au fait que l'humidité y est grande et que le sol étant noir réfléchit moins qu'un sol de limon clair.

Les moyennes bimensuelles des valeurs de la température du sol aux quatre profondeurs habituelles (5, 10, 20 et 50 centimètres) et aux trois moments de la journée (8, 12 et 16 heures) sont détaillées au *Tableau XII*.

La température du sol varie de la même manière dans les deux stations et aux différentes profondeurs : elle augmente d'heure en heure depuis le matin jusqu'à la fin de l'après-midi, de manière plus accusée dans les couches proches de la surface qu'en profondeur.

L'*esobe* humide se caractérise pourtant par des valeurs de température du sol légèrement inférieures à celles de l'*esobe* sec (environ 1 degré). Cette différence pourrait être attribuée aux faits que dans l'*esobe* humide, la nappe aquifère est superficielle et que la végétation y est d'un autre type.

Esobe humide et sec ont donc un microclimat fort semblable avec seulement des valeurs légèrement plus accusées de la plupart des facteurs dans l'*esobe* sec.

Dans les comparaisons et les discussions suivantes, nous ne

parlerons plus que d'*esobe* sans autre spécification et nous prendrons comme chiffres microclimatiques ceux obtenus dans l'*esobe* humide, comme étant les moins accusés.

2° *Entre l'esobe et le Beach (clairière ouverte dans la forêt).*

Ainsi que nous l'avons dit au début de ce chapitre, nous considérons le Beach comme une station de référence donnant les valeurs microclimatiques globales de Mabali. Nous la considérons aussi comme celle qui donne l'idée la plus approchée des conditions qui règnent dans les cimes de la forêt. A ce point de vue, les chiffres sont entachés d'une certaine approximation, mais à défaut de chiffres pris *in situ*, nous avons dû nous en contenter. D'autres observations prises sous le couvert des cimes seront discutées plus loin.

La température moyenne est plus basse dans l'*esobe* (24°7') qu'au Beach (25°9'). Les maxima et minima y sont plus marqués : *esobe* 30°4' et 19°4' — Beach 30° et 21°9'.

L'amplitude moyenne de la variation de température dépasse de 3° celle du Beach.

Par rapport au Beach, l'*esobe* a des écarts de température plus forts et une température moyenne légèrement plus faible.

Tout comme pour la température, le déficit de saturation à 8, 12 et 16 heures est plus marqué dans l'*esobe* qu'au Beach (*esobe* 4,0 — 11,3 et 12,6 mb ; Beach 2,9 — 10,0 et 11,7). L'humidité relative est moins élevée (*esobe* 86-70 et 68 % ; Beach 90-74 et 72 %).

La pluviosité pendant les 7 mois a été de 512 mm d'eau dans l'*esobe* contre 648,4 mm au Beach, soit 80 % de la quantité d'eau tombée au Beach.

Il est difficile de dire si cette différence dans les hauteurs d'eau recueillies est due aux conditions du milieu qui règnent sur l'*esobe* par rapport à celles qui règnent au Beach dans une ambiance forestière, ou bien s'il s'agit simplement d'une variation accidentelle des précipitations.

Il conviendrait de s'assurer si chaque année la variation se présente dans le même sens en faveur de la forêt.

En ce qui concerne le rayonnement, la quantité moyenne de calories-grammes reçues par centimètre carré est de 182 pour l'*esobe* et de 218 pour le Beach. L'*esobe* reçoit donc 83 % des

calories reçues au Beach. Nous pensons que la raison doit être recherchée dans le fait que le Beach se trouve en bordure du lac et qu'il y bénéficie de la réverbation de la grande surface d'eau libre.

Les moyennes bimensuelles des températures du sol aux diverses profondeurs et aux trois moments de la journée sont reprises au *tableau XII*.

Il est nécessaire ici d'examiner séparément les chiffres des températures du sol dans l'*esobe* sec et dans l'*esobe* humide et de les comparer avec ceux du Beach.

Au Beach, la température est fort semblable à celle de l'*esobe* sec, mais est supérieure à celle de l'*esobe* humide. Cette particularité s'explique vraisemblablement par le fait que le sol de l'*esobe* sec est du limon tout comme au Beach.

L'*esobe* se différencie du Beach par une température maximum plus élevée, une température minimum plus basse, une température moyenne légèrement inférieure et une amplitude de variation plus grande, une humidité relative plus faible et un déficit de saturation plus élevé, une pluviosité plus faible et un rayonnement moins intense. La température du sol de l'*esobe* humide est plus basse que celle du Beach.

3° *Entre le Beach et le sous-bois de la forêt de terre ferme.*

Les observations prises sous le couvert forestier des arbres de la forêt sont comparées avec celles qui règnent sur la pelouse du Beach et qui correspondent à ce que nous voudrions appeler le climat général forestier de Mabali.

La température moyenne a été plus faible en sous-bois qu'au Beach (forêt 24°6', Beach 25°9') ; les températures maximum et minimum également (forêt 27°8'—21°2' ; Beach 30°0'—21°9'). L'amplitude de variation des températures est aussi plus faible (sous-bois 6°6', Beach 8°1').

L'humidité relative est à 8, 12, 16 heures respectivement dans le sous-bois 95-84 et 83 %, au Beach 90-78 et 72 %. Le déficit de saturation a été dans le sous-bois : 1,4-5,5 et 6,2 ; au Beach 2,9-10 et 11,7 mb.

L'humidité relative est beaucoup plus forte sous le couvert forestier et le déficit de saturation beaucoup plus faible qu'au

Tableau XII. — Tableau comparatif et récapitulatif des valeurs moyennes sur 7 mois des facteurs microclimatiques dans les quatre stations à Mabali.

		Beach	<i>Esobe</i> humide	<i>Esobe</i> sec	Sous-bois forestier
Pluviosité	mm	648,4	512,0	524,0	511,5
Température maximum	°C	30,0	30,4	30,8	27,8
Température minimum	°C	21,9	19,4	20,0	21,2
Température moyenne	°C	25,9	24,7	25,5	24,6
<i>A 8 h</i>					
Température de l'air	°C	23,8	24,2	24,3	22,8
Humidité relative	%	90,0	86,0	86,0	95,0
Déficit de saturation	mb	2,9	4,0	4,1	1,4
<i>A 12 h</i>					
Température de l'air	°C	28,3	28,3	28,6	26,1
Humidité relative	%	74,0	70,0	69,0	84,0
Déficit de saturation	mb	10,0	11,3	12,0	5,5
<i>A 16 h</i>					
Température de l'air	°C	28,9	28,9	28,7	26,8
Humidité relative	%	72,0	68,0	67,0	83,0
Déficit de saturation	mb	11,7	12,6	13,4	6,2
Température max. abs.	°C	35,0	35,5	36,0	32,0
Température min. abs.	°C	19,0	16,0	17,0	18,7
Rayonnement cal-g/cm ² /jour		218,0	182,0	191,0	13,2
Température du sol	°C				
A 5 cm	08 h	25,1	24,0	25,2	23,5
	12 h	29,0	29,2	30,7	24,9
	16 h	30,0	30,2	30,9	26,2
A 10 cm	08 h	25,6	24,5	25,4	23,6
	12 h	27,4	25,5	28,7	23,9
	16 h	28,8	28,5	29,9	24,9
A 20 cm	08 h	26,6	25,4	26,4	24,4
	12 h	26,6	26,6	27,4	24,4
	16 h	27,0	27,0	28,3	24,5
A 50 cm	08 h	27,0	26,1	27,4	24,7
	12 h	27,2	26,2	27,4	24,7
	16 h	27,1	26,3	27,5	24,7

Beach. L'humidité reste supérieure à 80 % pendant la journée, le déficit de saturation inférieur à 7 mb sous la forêt.

Nous avons mesuré la quantité d'eau tombée au Beach : 648,4 mm ; en forêt 511,5 mm seulement ont atteint le sol, soit 78 % seulement. Une vingtaine de pour-cent de l'eau tombée est donc retenue par le feuillage des diverses strates arborescentes de la forêt. Ce chiffre est identique à celui rapporté par E. BERNARD comme estimation de la quantité de pluie interceptée par les cimes d'une forêt équatoriale du Brésil.

Pendant la même période, le rayonnement a eu une valeur de 218 cal-g/cm² au Beach ; dans le sous-bois forestier, il n'a été que de 13,2 cal-g/cm². On voit que la majeure partie du rayonnement (94 %) a été absorbée par les diverses strates de la forêt. Il ne reste disponible aux plantes à 2 mètres du sol que 6 % de l'énergie incidente tombant sur la pelouse du Beach.

Les résultats des mesures de température du sol aux diverses profondeurs et heures sont présentées au *tableau XII*. Les températures du sol sont beaucoup moins élevées sous le couvert forestier où elles sont constantes à partir d'une profondeur de 20 centimètres (24°4') (à 50 centimètres 24°7').

Ces chiffres correspondent à ceux obtenus par LOUIS dans une forêt primitive à Yangambi en 1938 : la température du sol forestier est légèrement inférieure à 25° [E. BERNARD, 7].

Le milieu forestier à l'ombre des grands arbres a un microclimat particulier et constant : humidité forte, température moins élevée qu'au Beach ou dans l'*esobe*, rayonnement faible, eau météorique atteignant le sol diminuée de 22 % sur la pluviosité locale, températures du sol modérées et constantes à partir d'une profondeur de 20 centimètres.

CONCLUSIONS.

Le *Tableau récapitulatif XII* nous permet de rassembler les conclusions suivantes :

1) Les *esobe*, aussi bien dans leurs parties humides que dans leurs parties sèches, possèdent un microclimat particulier, différent de celui de la forêt exprimé par les observations générales du climat particulier de Mabali (Beach). Il serait intéressant de

mesurer à la hauteur des cimes de la forêt, les conditions microclimatiques qui y règnent. En attendant la réalisation de ce projet, les mesures faites à découvert sur le terrain dégagé du Beach donnent des indications qui ne seront évidemment qu'approchées.

2) Le microclimat enregistré dans la parcelle du Beach est très différent de celui que l'on observe au niveau du sol dans le sous-bois.

3) Les parties humides et les parties sèches des *esobe* ont des microclimats parallèles avec une différence dans laquelle les *esobe* secs présentent des valeurs plus accusées que les *esobe* humides.

4) La pluviosité paraît moins élevée dans les *esobe* que dans la forêt. Sur 7 mois, de février à août 1956, elle est de :

- 512 mm dans l'*esobe* humide ;
- 524 mm dans l'*esobe* sec ;
- 648 mm au Beach ;
- 511 mm dans le sous-bois forestier.

Ces 7 mois correspondent à la petite saison des pluies et à la grande saison sèche.

Il nous a paru intéressant de séparer dans cette période les observations concernant les mois humides : du 1^{er} février au 15 juin et du 15 août au 31 août des deux mois secs : du 15 juin au 15 août.

Comme le montre le *diagramme 3*, l'allure des courbes est la même pour les deux périodes climatiques dans les diverses stations, bien que les stations de l'*esobe* se marquent par des fluctuations plus fortes des divers facteurs microclimatiques.

Pendant la période humide (*Tableau XIV*), les températures de l'air et du sol et le déficit de saturation sont généralement élevés.

Pendant la période sèche, au total, 19,9 mm d'eau sont tombés sur le Beach, 14,7 mm dans le sous-bois de la forêt, 26,6 mm dans l'*esobe* humide et 34,5 mm dans l'*esobe* sec. Cette période a été extrêmement sèche avec un mois de juillet sans aucune précipitation (*Tableau XV*).

Tableau XIII. — Tableau comparatif des valeurs des facteurs microclimatiques dans les quatre stations pendant la période humide du 1^{er} février au 15 juin et du 15 au 31 août 1956.

		<i>Esobe</i> humide	<i>Esobe</i> sec	Beach	Forêt
Pluviosité	mm	485,4	489,5	628,5	496,8
Température maximum	°C	31,0	31,3	30,6	28,1
Température minimum	°C	19,8	20,4	21,9	21,3
Température moyenne	°C	25,2	26,0	26,3	24,7
A 8 h					
Température sèche	°C	24,5	24,6	24,1	22,9
Humidité relative	%	88,0	87,0	91,0	96,0
Déficit de saturation	mb	3,8	4,1	2,9	1,3
A 12 h					
Température sèche	°C	28,7	29,0	28,7	26,3
Humidité relative	%	70,0	69,0	72,0	84,0
Déficit de saturation	mb	11,9	12,3	10,7	5,4
A 16 h					
Température sèche	°C	29,3	28,8	29,2	26,9
Humidité relative	%	68,0	66,0	70,0	83,0
Déficit de saturation	mb	12,9	13,7	12,7	6,3
Température max. abs.	°C	35,5	36,0	36,0	32,0
Température min. abs.	°C	17,0	19,0	19,0	18,7
Rayonnement cal-g/cm ² /jour		188,0	198,0	225,0	12,9
Température du sol	°C				
A 5 cm	08 h	24,4	25,4	25,3	23,7
	12 h	29,7	31,2	29,0	25,0
	16 h	30,8	31,0	30,0	26,1
A 10 cm	08 h	24,9	25,6	25,8	23,7
	12 h	27,9	29,1	27,6	23,9
	16 h	28,9	30,3	28,9	25,0
A 20 cm	08 h	25,8	26,6	26,8	24,4
	12 h	26,9	27,7	26,8	24,4
	16 h	27,4	28,7	27,3	24,5
A 50 cm	08 h	26,4	27,5	27,3	24,7
	12 h	26,7	27,6	27,4	24,7
	16 h	26,7	27,7	27,3	24,7

Tableau XVI. — Tableau comparatif des valeurs des facteurs microclimatiques dans les quatre stations pendant la période sèche du 15 juin au 15 août 1956.

		<i>Esobe</i> humide	<i>Esobe</i> sec	Beach	Forêt sous-bois
Pluviosité totale		26,6	34,5	19,9	14,7
Température maximum	°C	29,0	29,8	28,6	27,4
Température minimum	°C	18,5	19,2	21,7	21,2
Température moyenne	°C	23,8	24,5	25,2	24,4
A 8 h					
Température sèche	°C	23,5	23,6	23,3	22,4
Humidité relative	%	84,0	86,0	90,0	93,0
Déficit de saturation	mb	4,4	4,1	3,0	1,9
A 12 h					
Température sèche	°C	27,3	27,8	27,3	25,5
Humidité relative	%	72,0	69,0	77,0	83,0
Déficit de saturation	mb	10,1	11,3	8,4	5,6
A 16 h					
Température sèche	°C	28,2	28,5	28,1	26,6
Humidité relative	%	69,0	67,0	76,0	82,0
Déficit de saturation	mb	11,7	12,5	9,1	6,2
Température max. abs.	°C	32,0	33,0	31,5	30,2
Température min. abs.	°C	16,0	17,0	19,4	19,2
Rayonnement cal-g /cm ² /jour		166,0	174,0	201,0	13,8
Température du sol	°C				
A 5 cm					
08 h		23,0	24,7	24,7	23,1
12 h		28,1	29,6	29,1	24,9
16 h		29,1	30,5	30,2	26,3
A 10 cm					
08 h		23,7	25,1	25,2	23,4
12 h		26,7	27,9	26,9	24,0
16 h		27,4	28,8	28,6	24,8
A 20 cm					
08 h		24,5	26,1	26,3	24,3
12 h		25,8	27,0	26,4	24,3
16 h		25,9	27,3	26,4	24,4
A 50 cm					
08 h		25,3	27,2	26,5	24,7
12 h		25,3	27,1	26,7	24,7
16 h		25,4	27,1	26,6	24,7

Éléments du microclimat dans les quatre stations établies à MABALI

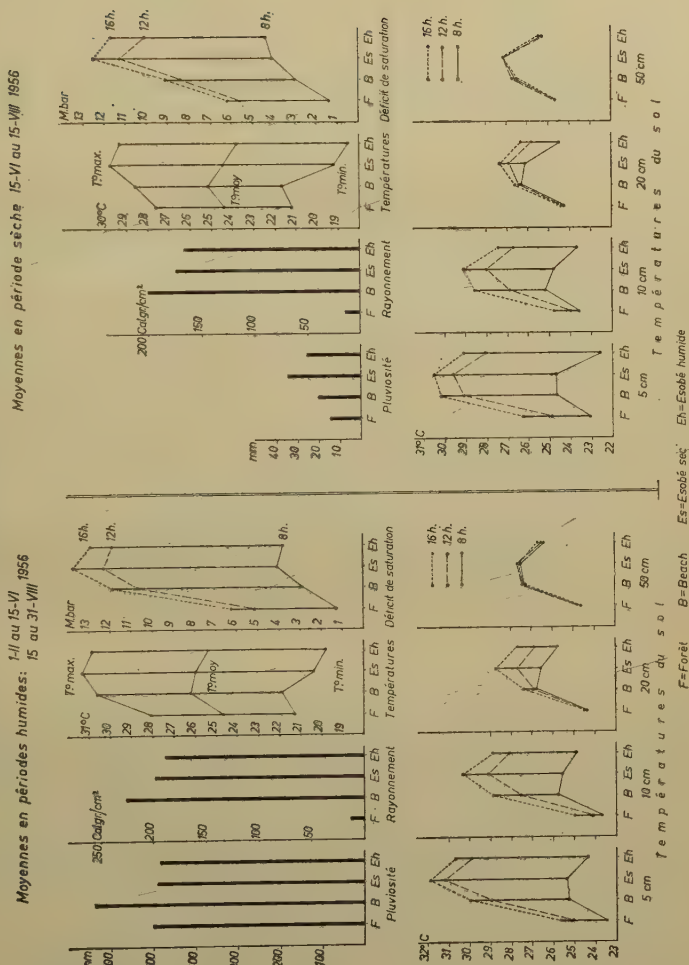


Diagramme 3. — Ensemble de diagrammes.

On constate contre toute attente que le déficit de saturation est plus faible pendant cette période sèche que pendant la période humide. Ceci amène les plantes à transpirer plus pendant la saison des pluies que pendant les mois secs. Les températures du sol sont plus basses pendant la période sèche.

VI. Étude de la végétation des *esobe* de la rive Est du lac Tumba.

Nous avons parcouru particulièrement quatorze *esobe* se trouvant sur la rive Est : deux font partie intégrante du domaine de l'I. R. S. A. C. à l'entrée de la concession ; cinq existent à l'embouchure de la Membe, rivière qui sépare les presqu'îles de Mabali et de Tondo ; trois autres s'allongent entre Tondo et la rivière Mekitele ; quatre enfin sont situés sur les versants de la Membe moyenne le long des routes de Bikoro et Tondo.

Neuf sont des *esobe* humides ; quatre sont secs ; le plus important en étendue, l'*esobe* de M'Bolo (I. R. S. A. C.), comprend à la fois de larges parties sèches et de larges parties humides. C'est dans cet *esobe* que nous avons installé les deux stations micro-climatiques dont nous avons analysé les résultats au chapitre précédent.

Nous avons décrit ces *esobe*, suivant leur localisation dans le paysage, la configuration et la nature de leur sol ainsi que la végétation qui les couvre. Cette végétation a été caractérisée par des relevés phytosociologiques suivant la méthode de BRAUN BLANQUET. Ces relevés ont été exprimés en bref dans ce chapitre.

Chaque *esobe* a ainsi été l'objet d'observations phytosociologiques, en moyenne vingt et plus par groupement, mais nous ne donnerons dans ce chapitre descriptif que des indications (relevé type) et nous reprendrons dans le chapitre 7 les résultats de nos observations purement phytosociologiques.

Nous avons réuni les résultats de nos observations dans une carte dont le fond a pu être établi grâce aux photographies aériennes des rives du lac Tumba (cfr. *carte 3*).

1. Les esobe au nord du poste de Tondo.

Entre la presqu'île de Tondo et la presqu'île voisine, il y a une large baie au fond de laquelle aboutit la rivière Mekitele et où s'étale une forêt périodiquement inondée à *Uapaca*, *Oubanguia* et *Guibourtia* (voir p. 14).

Cette forêt est sillonnée de quelques petits cours d'eau dont le plus important est l'Isokoyabo.

a) Sept à huit cents mètres en amont de l'embouchure de l'Isokoyabo se trouvent deux *esobe*. Il y en a un de chaque côté du lit assez large de la rivière qui coule dans une bande de forêt marécageuse.

Celui de la rive gauche a une étendue d'environ 6 hectares ; il porte une prairie dont la végétation atteint 1,50 m à 2,00 m de hauteur. Au moment où nous l'avons exploré en saison sèche (époque des basses eaux du lac, 4 août 1955) le sol était recouvert d'une nappe d'eau de 10 à 20 cm.

Un relevé de cette prairie donne la composition suivante :

<i>Schizachyrium kwiluense</i>	5.5
<i>Jardinea gabonensis</i>	1.3
<i>Cyrtosperma senegalense</i>	1-2.2
<i>Dissotis segregata</i>	1-2.1
<i>Dissotis phaeotricha</i>	+ .1
<i>Stipularia africana</i>	r

Quelques mares (ou *ehaba* en Kundu) en parsèment l'étendue. L'*esobe* est ceinturé d'une frange arbustive de *Dissotis segregata* en lisière de la forêt marécageuse.

Celui de la rive droite a environ 12 hectares. La couverture végétale est très semblable à celle du précédent. Il y a ici également dominance de *Schizachyrium kwiluense*.

A côté de cette graminée, on trouve : *Jardinea congoensis* et *J. gabonensis*, *Cercestis congoensis*, *Cyrtosperma senegalense*.

Quelques mares existent çà et là, plus profondes que dans le premier *esobe* et dans lesquelles on remarque deux espèces de *Nymphaea* et *Utricularia subulata*.

De-ci, de-là, dans quelques îlots de forêt marécageuse, dominent *Raphia Laurentii* et *Eremospatha*. Entre l'*esobe* et la forêt, on retrouve la frange arbustive de *Dissotis segregata*.

Le sol de ces deux *esobe* est constitué par une couche de tourbe gorgée d'eau reposant sur du sable blanc, lui même sur du kaolin. Le pH est d'environ 4,5.

Par la légère dépression de la rivière Isokoyabo et de la forêt marécageuse qui s'y trouve, les deux *esobe* sont séparés. Cette forêt est très abîmée par les femmes indigènes qui, quotidiennement pendant la saison des basses eaux, fouillent la vase en vue de trouver du poisson.

b) Dans les environs, en bordure de la baie de Tondo, parallèlement à la rive du lac et à 300 mètres de celle-ci, existe un autre *esobe*. Il est situé entre les deux rivières Mekitele et Isokoyabo. Il a une forme particulière ; sorte de digue de 750 mètres de longueur dont la superficie atteint 13 hectares et dont les versants sont en pente douce aboutissant chacun à une dépression. Ces deux dépressions se rejoignent au nord de l'*esobe* en une cuvette plus profonde.

La crête est couverte par de hautes graminées que nous avons observées dans des *esobe* secs :

<i>Hyparrhenia diplandra</i>	4.4
accompagnés de :	
<i>Clappertonia ficifolia</i>	1.2
<i>Jardinea gabonensis</i>	1.3
<i>Schizachyrium kwiluense</i>	1-2.1
<i>Bulbostylis laniceps</i>	1.2
Graminée n° 2	1-2.2
<i>Trichopteryx fruticulosa</i>	+ .2
<i>Lycopodium carolinianum</i>	+ .2

Il y a là un mélange d'espèces d'endroits secs et humides. Cette formation est établie sur un humus noir de 3 à 4 cm reposant sur un sable argileux d'une épaisseur de 60 cm, lui-même reposant sur de l'argile blanche très collante.

Les versants sont colonisés de même par *Schizachyrium kwiluense* comme dans les deux *esobe* précédents.

<i>Schizachyrium kwiluense</i>	5.5
<i>Jardinea gabonensis</i>	1.3
<i>Jardinea congoensis</i>	r
<i>Stipularia africana</i>	r
<i>Lycopodium carolinianum</i>	+ .2
<i>Bulbostylis densa</i>	r

<i>Hyparrhenia diplandra</i>	r
<i>Setaria sphacelata</i>	r
<i>Rhynchospora candida</i>	+ .2

Par endroits, il existe des plages de tourbe portant un tapis de *Lycopodium carolinianum*.

Autour de cette formation, faisant la lisière avec la forêt marécageuse, on trouve, comme dans les deux *esobe* précédents, une ceinture arbustive de *Dissotis segregata*.

La dépression nord de l'*esobe* est colonisée par *Jardinea gabonensis* en groupement presque pur.

Nous considérons que la crête de cet *esobe* est une *restinga* authentique. Elle pourrait avoir été formée au bord du lac à une époque où celui-ci devait être plus étendu.

Ce problème de la nature et de l'origine sera discuté plus loin.

2. Les *esobe* de la rivière Membe inférieure.

Il existe cinq *esobe* aux alentours de l'embouchure de la Membe ; quatre sur la rive droite et un sur la rive gauche. Il est curieux de constater que les deux *esobe* se trouvant de part et d'autre de la rivière et les plus proches du lac sont du type sec établi sur crête, tandis que les trois autres de la rive droite sont entourés par la forêt marécageuse. Ils sont très voisins l'un de l'autre et allongés parallèlement au cours inférieur de la rivière. Ils sont séparés par des couloirs forestiers marécageux. Nous les avons explorés en juillet et août 1955.

A) Parmi les trois *esobe* humides de la rive droite, au sud de Tondo, la plus proche de la rivière a une superficie de 5 hectares.

Sa plus grande partie est couverte par une végétation assez haute, ressemblant à celle des *esobe* décrits précédemment, mais plus riche en espèces.

<i>Schizachyrium kwiluense</i>	4.4
<i>Jardinea gabonensis</i>	1.3
<i>Bulbostylis laniceps</i>	2.3
<i>Sida linifolia</i>	+ .1
<i>Panicum parvifolium</i>	2.2
<i>Heteranthea guineensis</i>	2.2
<i>Dissotis multiflora</i>	+ .1
<i>Burmannia Welwitschii</i>	+ .1

Le sol est de la tourbe (10 à 15 cm d'épaisseur) inondée en périodes de crues.

Par endroits, on trouve des tapis de *Panicum parvifolium* et *Heteranthecia* avec *Burmannia*.

Cet *esobe* est entièrement circonscrit par une zone de 5 à 10 m de largeur, légèrement déprimée dans laquelle se trouve de l'eau en permanence. Cette zone est occupée par *Jardinea gabonensis*.

L'*esobe* voisin a une forme plus ou moins rectangulaire, il est orienté vers l'embouchure de la rivière ; il a une surface d'environ 8 hectares. La majeure partie en est occupée par la formation à *Schizachyrium kwiluense*. Au centre, quelques endroits un peu surélevés portent une végétation relativement basse de *Bulbostylis laniceps*, *Xyris*, *sp.*, *Lycopodium carolinianum*...

Autour de l'*esobe*, on retrouve la même zone déprimée, recouverte au moment des observations d'une dizaine de centimètres d'eau. C'est ici que, dans l'eau, *Sphagnum planifolium* s'étale en en court tapis mélangé à *Heteranthecia*. Le pH est d'environ 4,3.

Le troisième *esobe* (12 hectares) présente une végétation plus variée que celle des formations végétales humides des deux premiers. *Jardinea gabonensis* et *Sphagnum planifolium* ceinturent l'*esobe* dans une légère dépression recouverte d'eau. La végétation du centre de l'*esobe* est caractérisée par le relevé suivant :

<i>Schizachyrium kwiluense</i>	4.4
<i>Jardinea gabonensis</i>	1.3
<i>Panicum parvifolium</i>	+ .2
<i>Heteranthecia guineensis</i>	+ .2
<i>Bulbostylis laniceps</i>	3.3
Graminée n° 2	1.3
<i>Xyris</i> sp.	+ .2
<i>Sida linifolia</i>	1.1
<i>Neurotheca longidens</i>	+ .1.1
<i>Scleria hirtella</i>	2.1
<i>Lycopodium carolinianum</i>	+ .2
<i>Mesanthemum radicans</i>	+ .2
<i>Dissotis multiflora</i>	+ .2
<i>Scleria nyasensis</i>	+ .2
<i>Hyparrhenia diplandra</i>	+ .2
<i>Burmannia Welwitschii</i>	r

Elle groupe deux formations différentes, l'une où domine *Schizachyrium* sur un sol recouvert d'eau en permanence, l'autre où existe *Bulbostylis* sur sol tourbeux exondé périodiquement.

On observe une implantation d'*Hyparrhenia*, là où le sol est sec et tout particulièrement en peuplement pur sur deux anciennes termitières.

Il existe aussi une mare assez profonde bordée par un copalier de 4 à 5 mètres de haut (*Guibourtia sp.*) mourant et par une frange de *Stipularia africana* ; aucune végétation dans l'eau.

On remarque dans cet *esobe* des levées de terre de 50 cm de large et 30 cm de haut délimitant des cuvettes de 30 mètres sur 30 mètres environ. Ces levées de terre sont constituées par un mélange de sable et de tourbe. Elles sont certainement artificielles ; nous pensons qu'elles ont été établies par l'indigène en vue de récolter du poisson aux moments des crues et des décrues du lac comme nous l'avons vu faire par les femmes en forêt marécageuse.

Ces levées sont colonisées par *Jardinea gabonensis* et forment ainsi un quadrillé très remarquable dans le paysage de la prairie tourbeuse à *Bulbostylis*.

B) Les deux *esobe* secs établis sur crête sont situés à gauche et à droite de l'embouchure même de la Membe.

Celui de la rive droite a une forme d'arc de cercle de 500 m sur 100 m, la convexité tournée vers l'angle entre l'embouchure de la rivière et le lac. C'est un *esobe* de *restinga*.

Trois formations végétales s'y trouvent :

a) Une à *Schizachyrium kwiluense* ; celle-ci est située au bas du versant concave de la *restinga* et le long d'un petit affluent de la Membe ;

b) Une très mouillée à *Jardinea gabonensis* ; elle colonise le pied de la *restinga*, au confluent de la Membe et du petit affluent ;

c) Une sèche à *Hyparrhenia diplandra* ; elle occupe toute la crête.

L'état de la végétation indique qu'elle est brûlée fréquemment. Seuls y persistent *Hyparrhenia*, quelques *Bulbostylis* et *Clappertonia*. (Les habitants de la forêt proche sont vraisemblablement responsables des incendies de l'*esobe*).

Celui de la rive gauche de la Membe est situé parallèlement à la rive du lac dans la baie de la Membe, à environ 400 mètres

du lac. Il a une longueur d'environ 700 m, une largeur de 100 m ($\pm$ 8 hectares). Il se présente comme un véritable cordon enserré de toutes parts par la forêt marécageuse. Il ressemble étrangement à l'*esobe* situé entre la Mekitele et l'Isokoyabo.

Un petit affluent de la Membe en longe le bord Nord-Est.

La végétation de cet *esobe* se présente de la manière suivante :

a) Une formation à *Schizachyrium kwiluense* occupe la moitié de la surface, dans la partie la plus basse, voisine du petit cours d'eau ; elle est pauvre en espèces :

<i>Schizachyrium kwiluense</i>	5.5
<i>Fuirena stricta</i>	2.3
<i>Torenia parviflora</i>	1.2
<i>Scleria melanomphala</i>	r

b) Une formation à *Jardinea gabonensis* occupe un tiers environ de l'*esobe* dans sa partie Sud :

<i>Jardinea gabonensis</i>	5.5
<i>Rhynchospora candida</i>	+ .1
<i>Panicum parvifolium</i>	1.2
<i>Schizachyrium kwiluense</i>	+ .1
<i>Bulbostylis laniceps</i>	1.2
<i>Scleria melanomphala</i>	+ .2
<i>Eulophia caricifolia</i>	+ .1

Dans cette partie existent deux mares de très faible étendue, sans végétation propre ; mais les bords en sont couverts par *Panicum parvifolium*, *Lycopodium carolinianum*, *Stipularia africana*, *Dissotis multiflora* et *Cyrtosperma senegalense*.

c) La partie la plus élevée est couverte par un groupement à *Hyparrhenia diplandra* sur sol constitué par du sable grossier, très peu tassé et ne présentant pas de traces d'incendie. Le relevé ci-après montre un nombre fort restreint d'espèces :

<i>Hyparrhenia diplandra</i>	5.5
<i>Brachiaria kotschyana</i>	3.3
<i>Bulbostylis laniceps</i>	+ 1.2
<i>Setaria restioides</i>	2-3.2

Cet *esobe* est une ancienne *restinga*. A notre avis, elle a été formée à une époque où les eaux du lac atteignaient un niveau

plus élevé qu'aujourd'hui. En effet, les crues maxima actuelles et la végétation qui accompagne traditionnellement leur niveau viennent au pied de la *restinga*.

3. Les esobe de la Membe moyenne.

Sur les versants du cours moyen de la Membe, existent 4 *esobe*: deux sont situés entre la route de Mabali à Bikoro et la Membe, un est traversé par la route de Tondo sur une crête de partage des eaux de la Membe et d'un affluent de l'Isokoyabo ; le quatrième très petit se trouve à la jonction des routes Mabali-Bikoro-Tondo.

Ces quatre *esobe* sont du type sec.

a) L'*esobe* de la route de Mabali à Bikoro a une forme allongée ; la route traverse une de ses extrémités. Il atteint un kilomètre de long sur environ 250 mètres de large (25 hectares). Le centre en est occupé par la dépression très humide d'une tête de source d'un petit affluent de la Membe.

La formation végétale qui occupe la plus grande partie sèche de cet *esobe* est un groupement à *Hyparrhenia*, plus riche que ceux décrits précédemment. On peut y voir le début d'installation d'une strate arbustive.

Strate arbustive :	<i>Annona arenaria</i>	1.1
	<i>Nauclea latifolia</i>	r
	<i>Anthocleista Liebrechtsiana</i>	+ .1
Strate herbacée :	<i>Hyparrhenia diplandra</i>	4.4
	<i>Setaria restioidea</i>	1.3
	<i>Emilia sagittata</i>	+ .1
	<i>Indigofera capitata</i>	1-2.2
	<i>Rhynchelytrum repens</i>	1.2
	<i>Mikania cordata</i>	+ .1
	<i>Brachiaria Kotschyana</i>	1.2
	<i>Setaria sphacelata</i>	+ .2
	<i>Murdannia simplex</i>	+ .1
	<i>Axonopus flexuosus</i>	+ .2

Des traces d'incendie sont visibles dans la partie voisine de la route.

La lisière de l'*esobe* herbeux et de la forêt de terre ferme est nettement tracée par une ceinture de *Dicranopteris linearis* vers l'*esobe* et de *Anthocleista Liebrechtsiana* vers la forêt. Les versants

limoneux de la tête de source déjà citée, sont couverts par *Hyparrhenia*, parsemés de nombreux *Anthocleista*.

La limite entre la formation sèche à *Hyparrhenia* et les autres humides est établie par de grandes graminées *Loudetia phragmitoides*. La partie humide elle-même est occupée par *Bulbostylis* et *Jardinea* tandis que le long du filet d'eau, on trouve un palmier mourant de la forêt marécageuse : *Sclerosperma* sp.

b) Le deuxième *esobe* de la rive gauche de la Membe est situé sur le même versant et n'est séparé de son voisin que par la vallée boisée d'un affluent de la rivière.

La forêt qui borde cet affluent est marécageuse dans le bas : *Raphia Laurentii*, *Sclerosperma* sp. *Mitragyna stipulosa* et *Xylopia rubescens*; sur les pentes, forêt de terre ferme à *Piptadeniastrum africanum*. La lisière entre l'*esobe* et la forêt de terre ferme est constituée par *Dicranopteris linearis* et *Anthocleista Liebrechtiana*.

Cet *esobe* a une forme assez sinueuse; il est peu étendu (10 hectares) et uniforme dans sa végétation. Les indigènes le brûlent assez souvent. Quand nous l'avons exploré en juillet 1955, le sol était complètement recouvert de cendres et les touffes de graminées noircies.

Hyparrhenia pousse ici en touffes assez importantes laissant entre elles des zones de terre nue, démontrant la fréquence du feu.

Tous les *Annona* sont en fruits alors que dans les autres *esobe* non brûlés ils se rencontrent rarement dans cet état.

La végétation se présente comme suit :

Strate arbustive :	<i>Annona arenaria</i>	2.1
Strate herbacée :	<i>Hyparrhenia diplandra</i>	3.3
	<i>Indigofera capitata</i>	r
	<i>Bulbostylis laniceps</i>	+ .2
	<i>Setaria restioides</i>	+ .2
	<i>Mikania cordata</i>	r
	<i>Rytachne rothboelliioides</i>	+ .2
	<i>Annona arenaria</i>	+ .1

c) La route de Tondo sur la crête de partage des eaux entre la Membe et l'Isokoyabo, traverse un petit *esobe* sec de 6 à 7 hectares constituant une selle qui pend de part et d'autre de la route. Voici la végétation dans la partie située au nord de la route :

Strate arbustive :	<i>Annona arenaria</i>	+ .1
	<i>Bertiera Laurentii</i>	+ .1
Strate herbacée :	<i>Hyparrhenia diplandra</i>	5.5
	<i>Indigofera capitata</i>	+ .2
	<i>Bulbostylis laniceps</i>	3.3
	<i>Clappertonia ficifolia</i>	+ .2
	<i>Vigna multiflora</i>	+ .1
	<i>Clerodendron Thomsonae</i>	+ .2
	<i>Adenia sp.</i>	+
	<i>Ipomoea aperirosa</i>	r

Elle est dominée par une grande termitière entièrement recouverte de : *Cnestis urens* et *C. ferruginea* au sommet parmi *Hyparrhenia diplandra*, *Jardinea gabonensis*, *Ipomoea aperirosa*, *Dissotis Brazzae*....

Le bas de la pente Nord de l'esobe est en contact avec la forêt marécageuse par une ceinture de *Jardinea gabonensis*.

La partie de l'esobe au sud de la route a un caractère différent : au delà d'une bande d'*Hyparrhenia* bordant la route, elle est caractérisée par une végétation arbustive dense implantée dans une prairie où domine *Lycopodium cernuum*.

Un relevé montre :

Strate arbustive :	<i>Anthocleista Liebrechtsiana</i>	2.1
	<i>Harungana madagascariensis</i>	2.1
	<i>Pentaclethra Eetveldeana</i>	+ .1
	<i>Bartiera Laurentii</i>	+ .1
	<i>Musanga cecropioides</i>	r
	<i>Ouatea callophylla</i>	+ .1
	<i>Annona arenaria</i>	1.1
	<i>Clappertonia ficifolia</i>	1.1
Strate herbacée :	<i>Lycopodium cernuum</i>	5.5
	<i>Dicranopteris linearis</i>	1.2
	<i>Bulbostylis laniceps</i>	1.2
	<i>Tacazzea sp.</i>	+ .1
	<i>Hyparrhenia diplandra</i>	+ 1.2
	<i>Dissotis sp.</i>	+ .2
	<i>Trichopteryx fruticulosa</i>	+ .3
	<i>Jardinea gabonensis</i>	+ .2
	<i>Setaria restioides</i>	+ .2

Le fond Sud de l'esobe joint la forêt marécageuse dont la lisière est formée par *Jardinea gabonensis*.

d) L'esobe de Mpaha est très petit, il a la forme d'une lentille.

Les deux formations, l'une à *Hyparrhenia*, l'autre à *Lycopodium cernuum* et *Anthocleista Liebrechtsiana* s'en partagent l'étendue.

4. Les esobe de l'I.R.S.A.C.

A l'entrée de la concession de l'I. R. S. A. C. par la route de Bikoro, existent des esobe :

L'un (a) peu visible est enclavé dans la forêt marécageuse (rive droite de la vallée affluente de la rivière Membe) ;

L'autre (b) de grandes dimensions, est traversé par la route desservant le centre : c'est l'esobe de M'Bolo qui a fait l'objet d'une étude préliminaire par BOUILLENNE, MOUREAU et DEUSE[11] et dans lequel nous avons installé deux stations microclimatiques (partie humide et sèche).

a) Complètement enserré dans la forêt marécageuse, le petit esobe est humide et tourbeux. Il occupe une superficie de 25 hectares et a la forme d'un U : deux bandes réunies par leur base et séparées par un couloir de forêt marécageuse. Les deux branches de l'U sont couvertes par une formation à *Bulbostylis* et *Selaginella* ceinturée par une frange à *Jardinea gabonensis*.

Dans la partie à *Bulbostylis* et *Selaginella*, existent des plages de tourbe dénudée où l'eau affleure : seules quelques *Utricularia Gillettii* y poussent. Ces plages de tourbe semblent subir une colonisation à partir des bords par *Sphagnum planifolium* et *Mesanthemum radicans*. Ces endroits ressemblent aux schlenken des tourbières européennes.

En outre, il existe de nombreuses mares assez profondes couvertes par *Sphagnum planifolium* dans le tapis duquel on trouve *Utricularia Gillettii* et *Mesanthemum radicans*. Elles sont plus ou moins entourées par une formation arborescente de 5 à 7 m de hauteur : *Stipularia africana*, *Syzygium aff. cordatum*, *Harungana madagascariensis*, *Xylopia rubescens*, en sont les principaux constituants.

La base de l'U de l'esobe est occupée par des formations végétales très humides. La plus grande partie est couverte par *Jardinea*, la région la plus humide porte une végétation riche à *Rhynchospora corymbosa*.

La branche la plus au nord de l'U porte une prairie à *Bulbos-*

tylis. Le fond de cette branche est densément arboré de *Harungana madagascariensis*.

b) L'*esobe* de M'Bolo, est le plus grand *esobe* de la région. Il a une superficie d'environ 150 hectares.

Cet *esobe* était sacré : lieu de séjour d'un esprit malfaisant M'Bolo qui attirait les indigènes, et les faisait disparaître.

Il renferme à lui seul tous les faciès et toutes les formations végétales que nous avons relevés dans les autres *esobe*.

Il a été déjà examiné (1955), mais aucun relevé n'y avait été réalisé. Nous le décrivons plus en détail en suivant deux coupes tracées de telle manière qu'elles recoupent les faciès humides et secs.

1. Une première coupe A-B approximativement Sud-Nord montre : une formation à *Hyparrhenia diplandra* adossée à la forêt de terre ferme (à *Piptadeniastrum africanum*). A mesure que l'on s'éloigne de la forêt, on se trouve dans une partie d'*esobe* sec parsemé d'*Annona arenaria* et *Nauclea latifolia* sur le même limon que la forêt.

A 250 m de la lisière forestière existe une mare, boisée en grande partie, et qui ne tient pas d'eau en saison sèche.

Le bosquet est constitué par *Anthocleista Schweinfurtii*, *Disotis segregata*, *Eremospatha* sp. dans de grosses touffes de *Jardinea gabonensis* et parmi *Stipularia africana*. La partie non boisée de la mare porte : *Jardinea gabonensis* en touradons énormes, *Trichopteryx fruticulosa*, *Stipularia africana*, *Schizachyrium kwiluisse*, *Tacazzea pedicellata*.

Au delà de cette mare, la formation à *Hyparrhenia* reprend. Elle cesse à l'endroit où la pente s'accroît et où commence la vaste dépression de l'*esobe* humide dans laquelle apparaissent les enclaves peu marquées de plusieurs têtes de sources et où le sol ne comporte pas de limon.

Une ceinture de *Loudetia phragmitoides* jalonne la dépression d'une de ces têtes de source dont la végétation est un enchevêtrement de touffes de *Jardinea gabonensis*. Le sol est une tourbe fluide d'environ 40 cm d'épaisseur.

Lui fait suite dans la coupe A-B, une formation à *Bulbosylis* et *Xyris* dont on trouvera des relevés au tableau XX.

Elle est établie sur une tourbe plus ferme dont l'épaisseur varie de 10 à 30 cm. Puis une légère élévation limoneuse couverte

par *Hyparrhenia*, ensuite des plages à *Bulbostylis*, *Xyris* et *Selaginella*.

La coupe traverse ensuite le cours supérieur d'un sous-affluent de la Membe qui coule dans l'*esobe* et le long duquel s'échelonnent trois îlots forestiers marécageux.

La lisière du bosquet est constituée par une ceinture de grosses touffes de *Jardinea gabonensis* et *Aframomum Melegueta* et est entourée vers l'*esobe* par une frange à *Rhynchospora corymbosa*. (cf. relevés du *tableau VIII*).

L'îlot forestier lui-même est composé par *Raphia Laurentii*, *Phoenix reclinata*, *Eremospatha*, *Mitragyna stipulosa*, *Xylopia rubescens*, etc. Son sol est nu et tourbeux.

Au delà de cette dépression forestière et de ses ceintures, la rive porte une formation à *Bulbostylis* sur tourbe ferme. Elle est parsemée de mares (*ehaba*) de plus ou moins grande étendue et de végétation variée : mare à *Sphagnum*, à *Eriocaulon sp.* ou à *Scirpus confervoides*. Ces mares sont reliées entre elles, en période des pluies, par l'étalement de la nappe entourant les touradons de *Jardinea*. On y observe les traces du passage du gibier : antilopes, potamochères. Il est possible que la persistance de certaines de ces mares réside dans le piétinement du gibier.

Cette grande étendue à *Bulbostylis* s'accrole, au bout de l'*esobe*, à de grandes prairies à *Jardinea gabonensis* et *Sphagnum planifolium* bordant la forêt marécageuse d'un autre affluent de la Membe, dans les endroits les plus bas de l'*esobe*, sur une tourbe très fluide et recouverte d'eau.

2. La coupe C-D est orientée à peu près Ouest-Est. Elle traverse l'*esobe* perpendiculairement à la première. Elle commence à la forêt de terre ferme (à *Piptadeniastrum*) de la presqu'île de Mabali proprement dit, établie sur limon.

La lisière *esobe*-forêt porte *Dicranopteris linearis* et *Anthocleista Liebrechtsiana*. Une formation à *Hyparrhenia* lui fait suite sur la pente ; puis un groupement à *Schizachyrium kwiluense* (cf. relevés du *tableau XVIII*) ; ensuite la formation tourbeuse à *Bulbostylis*.

Le sol se relève, le limon apparaît, il est couvert par *Hyparrhenia* avec quelques buissons d'*Annona* et *Nauclea*.

La route traverse ce faciès sec approximativement suivant la ligne de crête. A l'autre côté de la route, la pente s'incline

légèrement d'abord, puis plus brusquement vers une petite dépression constituant la tête de source d'un sous-affluent de la Mokala, rivière se jetant dans le lac au fond de la baie de Bwalanga et constituant la limite Sud de la concession I. R. S. A. C.

Cette tête de source est occupée par une formation à *Bulbostylis* et *Selaginella* (cf. relevés du *tableau XIX*) dans laquelle existent de nombreux *Loudetia phragmitoides*.

La coupe C-D, tout comme la coupe A-B, rencontre des groupements végétaux qui se localisent suivant les ondulations du terrain, les uns sur les crêtes avec sol limoneux, les autres dans la dépression sur sol tourbeux, les points les plus bas étant les fonds de vallée couvertes de forêt marécageuse.

La distribution des groupements se fait suivant un système de *catena* que nous examinerons plus loin lorsque nous chercherons à définir les associations rencontrées dans les *esobe* du lac Tumba.

Le sol se relève à nouveau en une crête limoneuse vers l'Est qui porte une nouvelle formation à *Hyparrhenia*.

Enfin, nouvel abaissement du sol : la tourbe réapparaît et, avec elle, *Bulbostylis* sur une pente fort peu marquée. Dans le bas, existe une formation à *Jardinea* qui forme la lisière avec la forêt marécageuse d'un autre affluent de la Mokala.

Nous souhaiterions que l'*esobe* de M'Bolo soit laissé dans son état naturel, afin que les formations végétales en restent intactes et que l'on puisse étudier leurs lentes évolutions pendant plusieurs années.

VII. Étude phytosociologique des *esobe* du lac Tumba.

Dans le chapitre précédent, nous avons décrit au point de vue géographique et géomorphologique et caractérisé du point de vue végétation, quatorze *esobe* des bords du lac Tumba.

Reprenant l'ensemble de nos observations, nous nous attacherons ici à préciser les données de nos relevés et à tenter de définir les associations caractéristiques et éventuellement les sous-associations. Les nombreux relevés, que nous avons faits dans chacun des groupements détaillés dans ce chapitre, se sont

révélés très homogènes à tel point que nous n'en donnons dans les tableaux, que les plus représentatifs, étant bien entendu que la liste des espèces est complète.

Nous distinguerons les groupements aquatiques, les groupements des *esobe* humides et ceux des *esobe* secs.

1. *Les groupements aquatiques.*

Dans les parties humides des *esobe*, nous avons trouvé d'assez nombreux endroits d'eau libre dont la profondeur est comprise entre 10 centimètres et 1 mètre. Ces mares (*ehaba*) ont une superficie variant entre 1 et 100 mètres carrés. L'eau est fortement colorée en noir ; le fond est de la tourbe vaseuse. Les sondages ont révélé qu'il n'y avait jamais plus de 10 à 15 centimètres de tourbe.

Ces mares ne montrent pas d'eau courante ; elles ne sont pas reliées entre elles, mais à l'époque des hautes eaux du lac, le niveau de la nappe se relève légèrement de telle sorte que l'eau s'étale d'une mare à l'autre à travers les touffes de *Jardinea*.

La végétation est composée de quelques plantes enracinées dans le fond et d'autres nageantes ; parmi les espèces entièrement submergées : *Scirpus confervoides* et *Eriocaulon* *sp.* ; parmi les espèces enracinées dans le fond mais dont les feuilles et inflorescences flottent ou émergent au-dessus de la surface : *Nymphaea Lotus*, *Eleocharis* *sp.* et *Potamogeton acutangula* ; parmi les nageantes : *Utricularia Gillettii*. Les relevés sont typiques à cet égard.

Ce groupement est très fréquent en Afrique centrale. Il a été décrit par LEBRUN sous le nom de *Nymphaeetum Loti* et par LÉONARD : *Utricularieto-Nymphaeetum*.

Cette association se retrouve aussi dans les forêts marécageuses et dans les anses calmes du lac.

Dans les *esobe*, ce groupement est souvent envahi par des tapis de *Sphagnum planifolium* (relevé 13).

Ces *ehaba* sont en voie de comblement par la végétation et l'association à *Nymphaea* et *Utricularia* est appelée à être remplacée par une végétation turfigène semi-aquatique.

Tableau XV. — Utricularieto-Nymphaeetum.

Numéro des relevés	1	2	3	4	5	6	7
Surface des relevés (m ²)							
<i>Strate inférieure et nageante</i>							
Hauteur (cm)	10	5	5	5	5	10	5
Recouvrement (%)	10	20	10	10	50	80	80
<i>Strate immergée</i>							
Hauteur (cm)	10	10	5-10	10	—	—	—
Recouvrement (%)	80	100	100	50	—	—	—
<i>Nymphaea Lotus</i>	+1	2.1	1.1	1.1	1.1	+1	+1
<i>Utricularia Gillettii</i>	+2	+2	1.2	+2	3.2	+2	—
<i>Sphagnum planifolium</i>	—	—	+2	—	—	—	—
<i>Panicum parvifolium</i>	2.2	—	—	—	2.2	4.5	4.4
<i>Rhynchospora candida</i>	—	—	+2	—	—	+2	—
<i>Mesanthemum radicans</i>	1.3	—	—	—	—	+2	—
<i>Schizachyrium kwiluense</i>	—	—	—	—	—	—	+2
<i>Scirpus confervoides</i>	3.4	3.4	2.3	2.3	—	—	—
<i>Eleocharis variegata</i>	3.3	+1	3.3	2.2	—	+2	4.4
<i>Eriocaulon sp.</i>	—	—	+2	—	—	—	—

Relevé 1 : *Esobe* de M'Bolo, mare dans le groupement à *Bulbostylis*.

Relevé 2 : *Esobe* de M'Bolo, mare dans le groupement à *Bulbostylis*.

Relevé 3 : *Esobe* de M'Bolo, mare dans le groupement à *Jardinea*.

Relevé 4 : *Esobe* de M'Bolo, mare dans le groupement à *Jardinea*.

Relevé 5 : *Esobe* de M'Bolo, mare dans le groupement à *Bulbostylis*.

Relevé 6 : *Esobe* de M'Bolo, mare dans le groupement à *Bulbostylis*.

Relevé 7 : *Esobe* de M'Bolo, mare dans le groupement à *Schizachyrium*.

2. Les groupements des esobe humides.

a. Groupements semi-aquatiques.

Association à *Jardinea gabonensis*.

Elle a été décrite par ROBIJNS [48] en 1936 sous le nom de *Jardineetum congoensis*. Dans les environs de Mabali, les deux espèces de *Jardinea* existent mais c'est *Jardinea gabonensis* qui est de loin la plus commune.

C'est une association très pauvre en espèces. De-ci de-là, on peut identifier *Cyrtosperma senegalense*, *Rhynchospora corymbosa*, *Schizachyrium kwiluense*, *Eulophia caricifolia*.

Elle est caractéristique des parties basses des *esobe*, périodiquement inondées. *Jardinea* est une grande graminée croissant en touffes énormes qui peuvent atteindre 1 mètre de haut et de large. Ces touffes sont très nombreuses et rapprochées. Les feuilles

Tableau XVI. — Association à *Jardinea gabonensis*.

Numéro des relevés	1	2	3	4	5	6
Surface des relevés (m ²)	200	150	200	250	300	200
<i>Str. herb. supér. et frutescente</i>						
Hauteur (cm)	200	200	200	200	200	200
Recouvrement (%)	100	100	100	100	100	70
<i>Str. herb. moyenne</i>						
Hauteur (cm)	—	50	—	50	—	50
Recouvrement (%)	—	30	—	30	—	70
<i>Str. inférieure</i>						
Hauteur (cm)	10-20	10	10	10	10	10
Recouvrement (%)	20	20	10	50	80	20
<i>Jardinea gabonensis</i>	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	4.4
<i>Cyrtospermum senegalense</i>	+1	—	—	+1	R	—
<i>Eulophia caricifolia</i>	R	+1	+1	+1	—	—
<i>Schizachyrium kwiluense</i>	+2	+2	—	+2	—	—
<i>Stipularia africana</i>	+2	—	—	—	—	3.3
<i>Rhynchospora corymbosa</i>	+2	—	—	—	—	+2
<i>Bartiera Laurentii</i>	—	—	—	—	—	+1
<i>Dissotis multiflora</i>	—	—	—	—	—	1.2
<i>Rhynchospora candida</i>	—	+1	+1	+1	R	—
<i>Bulbostylis laniceps</i>	+2	1-2.2	+2	—	—	2.2
<i>Scleria melanomphala</i>	—	+2	—	—	—	—
<i>Mitragyna stipulosa</i>	—	—	—	G	—	—
<i>Raphia Laurentii</i>	—	—	—	—	G	—
Graminée n° 2	—	—	+2	—	—	2.2
<i>Tacazzea pedicellata</i>	—	—	—	—	—	3.2
<i>Mesanthemum radicans</i>	+2	—	+2	—	—	+1
<i>Sphagnum planifolium</i>	—	—	—	1.2	1.2	—
<i>Panicum parvifolium</i>	1.2	1-2.2	—	2.2	3.2	1.2
<i>Heteranthea guineensis</i>	1.2	—	1.2	1.2	1.2	1.2

Relevé 1 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide de l'Ouest.

Relevé 2 : *Esobe* de la Membre, partie humide en contrebas de la *restinga*.

Relevé 3 : *Esobe* de Tondo, partie humide encerclant l'*esobe*.

Relevé 4 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide de l'Est.

Relevé 5 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide du Sud-Est.

Relevé 6 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide du Sud.

Tableau XVII. — Association à *Sphagnum planifolium*.

Numéro des relevés	1	2	3	4	5	6	7
Surface des relevés (m ²)	20	50	150	30	200	200	200
<i>Strate herbacée</i>							
Hauteur (cm)	—	—	50	200	200	200	200
Recouvrement (%)	—	—	30	50	100	100	70
<i>Strate inférieure</i>							
Hauteur (cm)	5	10	10	10	10	10	10
Recouvrement (%)	100	50	100	100	100	40	100
<i>Sphagnum planifolium</i>	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
<i>Panicum parvifolium</i>	+2	+2	2.3	1.2	3.2	—	1.2
<i>Heteranthecia guineensis</i>	—	—	—	—	2.2	2.2	1.2
<i>Utricularia Gillettii</i>	+1	+1	1.1	—	—	—	—
<i>Selaginella scandens</i>	—	—	2-3.3	—	—	—	—
<i>Mesanthemum radicans</i>	—	—	2.2	—	—	—	—
<i>Rhynchospora candida</i>	—	—	—	—	—	+1	—
<i>Xyris decipiens</i> var. <i>Vanderystii</i>	—	—	1-2.2	+2	—	—	—
<i>Bulbostylis laniceps</i>	—	—	—	2.3	—	—	2.2
<i>Cyrtosperma senegalense</i>	—	—	+1	+1	+1	—	—
<i>Jardinea gabonensis</i>	—	—	1.3	2.3	1.3	1.3	1.3
<i>Eulophia caricifolia</i>	—	—	—	—	R	—	—
<i>Stipularia africana</i>	—	—	+2	1.2	—	—	—
<i>Rhynchospora corymbosa</i>	—	—	+1	—	—	—	—
<i>Panicum nervatum</i>	—	—	+2	+2	—	—	—
<i>Dissotis multiflora</i>	—	—	+1	—	—	—	—

Relevé 1 : *Esobe* de M'Bolo, partie Ouest.

Relevé 2 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide à l'Ouest.

Relevé 3 : *Esobe* de M'Bolo, partie centrale.

Relevé 4 : *Esobe* de M'Bolo, partie Est.

Relevé 5 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide à l'Ouest.

Relevé 6 : *Esobe* de Tondo, partie encerclant l'*esobe*.

Relevé 7 : *Esobe* de M'Bolo, partie Sud.

sont longues (3 m), dures et coupantes comme des razors. Les inflorescences sont portées par de hautes hampes feuillées dépassant la touffe. La marche y est extrêmement difficile.

Par endroits, un tapis de *Sphagnum* s'installe entre les touffes.

Très rarement, on observe quelques plantules d'arbres de la forêt marécageuse tels *Mitragyne stipulosa*, *Xylopia rubescens* ou *Raphia Laurentii*.

Cette association est typique, elle se présente dans le paysage avec un caractère reconnaissable.

Nous proposons de l'appeler *Jardineetum gabonensis*.

Association à Sphagnum planifolium.

Sphagnum planifolium forme, dans de nombreux endroits, un tapis de 5 à 20 centimètres d'épaisseur flottant à la surface de l'eau ou s'insinuant entre les touffes de *Jardinea*.

Il est toujours associé avec *Panicum parvifolium*, *Heteranthea guineensis* et *Utricularia*; *Mesanthemum radicans* émaille par endroits le tapis de ses fleurs blanches (*Tableau XVII*).

Le pH est de 4,0 dans le tapis ; la tourbe est molle, épaisse de 20 à 50 centimètres et très aqueuse.

Ce groupement est turfigène. Il présente par endroits des surfaces nues de tourbe sur laquelle croissent seulement quelques *Utricularia* : c'est l'homologue des *schlenken* des tourbières européennes.

Nous proposons d'appeler cette association : *Sphagnetum planifolii*.

b. Groupements tourbeux exondés.

Association à Schizachyrium kwiluense.

Dans les têtes de source, dans le lit des ruisseaux qui en découlent, de même que dans les parties d'*esobe* où il y a des *restingaes*, au pied humide de celles-ci, existe un groupement de graminées installées sur sol de tourbe noire peu épaisse mais très aqueuse. L'eau y est généralement courante. Le pH est de 5,0.

Nous sommes en présence d'une végétation sans arbustes développant un faciès prairial caractéristique en bordure des ruisseaux.

L'espèce la plus répandue est *Schizachyrium kwiluense* dont les feuilles sont étalées dans un seul plan. De grosses touffes de

Tableau XVIII. — Association à *Schizachyrium kwiluense*.

Numéro des relevés	1	2	3	4	5
Superficie des relevés (m ²)	100	150	200	100	150
<i>Strate herb. sup. & frutescente</i>					
Hauteur (cm)	200	200	200	200	200
Recouvrement (%)	100	100	100	100	70
<i>Strate herb. moyenne</i>					
Hauteur (cm)	50	50	—	50	50
Recouvrement %	100	10	—	10	20
<i>Strate inférieure</i>					
Hauteur (cm)	10	—	—	20	10
Recouvrement %	20	—	—	10	10
<i>Schizachyrium kwiluense</i>	5.5	5.5	5.5	5.5	3-4.2
<i>Jardinea gabonensis</i>	1.3	1.3	1.3	—	+3
<i>Jardinea congoensis</i>	1.3	1.3	—	1.3	—
<i>Xyris decipiens</i> var. <i>Vanderystii</i>	+2	—	—	—	+2
<i>Bulbostylis laniceps</i>	3.3	—	—	—	—
<i>Scleria hirtella</i>	2.1	+2	—	—	—
<i>Dissotis multiflora</i>	+2	—	—	—	2.1
graminée n° 2	1.3	—	—	—	—
<i>Scleria nyasensis</i>	+1	—	—	—	—
<i>Sida linifolia</i>	1.1	—	—	—	—
<i>Neurotheca congolana</i>	+1.1	—	—	—	—
<i>Stipularia africana</i>	—	R	R	—	—
<i>Setaria sphacelata</i>	—	+2	—	—	—
<i>Rhynchospora candida</i>	—	R	—	—	—
<i>Cyrtosperma senegalense</i>	—	—	1-2.2	1.2	—
<i>Dissotis segregata</i>	—	—	1-2.1	—	—
<i>Cercestis congoensis</i>	—	—	—	+1	—
<i>Rhynchospora corymbosa</i>	—	—	—	—	1.2
<i>Loudetia phragmitoides</i>	—	—	—	—	1.3
<i>Tacazzea pedicellata</i>	—	—	—	—	+1
<i>Eleocharis variegata</i>	—	—	—	—	1.3
<i>Lycopodium cernuum</i>	—	—	—	—	+2
<i>Lycopodium carolinianum</i>	2.2	2.2	—	—	—
<i>Panicum parvifolium</i>	1.2	—	—	—	—
<i>Heteranthecia guineensis</i>	+2	—	—	—	2.2

Relevé 1 : *Esobe* n° 3 de la Membe près de Tondo, partie humide.Relevé 2 : *Esobe* n° 3 de la Mekitele, partie humide.Relevé 3 : *Esobe* n° 2 de la Membe près de Tondo, partie humide.Relevé 4 : *Esobe* n° 1 de la Membe près de Tondo, partie humide.Relevé 5 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide du cours supérieur d'un ruisseau.

Loudetia phragmitoides et de *Jardinea gabonensis* se trouvent ça et là ; les principales espèces accompagnantes sont : *Rhynchospora corymbosa*, *Cyrtosperma senegalense*, *Pseudochinolaena polystachya*, *Panicum parvifolium*, *Stipularia africana*, *Dissotis multiflora*, *Setaria sphacelata*...

Nous n'avons pas trouvé de *Sphagnum* dans ces emplacements.

Le *tableau XVIII* donne les résultats des principaux relevés faits dans cette association. Nous proposons de l'appeler : *Schizachyrietum kwiluensis*.

Association à Rhynchospora corymbosa.

C'est une formation particulièrement riche et serrée en plein esobe herbeux ; elle occupe les couloirs d'eau prolongeant en aval les zones de têtes de source.

Elle est établie sur une tourbe gorgée d'eau d'environ 50 cm à un mètre d'épaisseur.

L'espèce caractéristique, *Rhynchospora corymbosa*, couvre la moitié du terrain de ses touffes denses, cachées le plus souvent par des plantes plus volumineuses comme *Stipularia africana*, *Bulbostylis laniceps*, *Scleria Bequaertii*, *Rhynchospora glauca*, *Trichopteryx fruticulosa*, *Jardinea gabonensis* et des lianes comme *Lygodium scandens* et *Tacazzea pedicellata*. Le sol est couvert entre les touffes par *Panicum parvifolium* et *Heteranthecia guineensis*.

Quelques *Loudetia phragmitoides* jalonnent ces formations.

Seules, les hampes de *Rhynchospora corymbosa* dépassent cette végétation s'imposant dans le paysage par ses touffes de 50 cm de hauteur se joignant les unes aux autres et enserrées par des *Lygodium scandens* et *Tacazzea pedicellata*.

Le *tableau XIX* donne des résultats des relevés réalisés dans cette association.

LÉONARD [35] décrit, dans les environs de Yangambi, une association qu'il appelle *Rhynchosporetum-Cyperetum longibracteati*, qui occupe des fonds de dépressions marécageuses dans la forêt ombrophile. Cette association diffère de notre groupement par la présence d'espèces plus aquatiques telles que *Echinochloa pyramidalis* et *Polygonum pulchrum*.

Nous proposons d'ériger notre groupement au rang d'association et de l'appeler *Rhynchosporetum corymbosae*.

Tableau XIX. — Association à *Rhynchospora corymbosa*.

Numéro des relevés	1	2	3	4	5	6	7
Superficie des relevés (m ²)	200	100	150	100	100	150	200
<i>Strate arborescente</i>							
Hauteur (cm)	400	—	—	—	—	—	400
Recouvrement (%)	5	—	—	—	—	—	50
<i>Strate herbacée sup. et frutescente</i>							
Hauteur (cm)	200	200	200	200	200	200	200
Recouvrement (%)	80	80	80	70	70	60	80
<i>Strate herbacée moyenne</i>							
Hauteur (cm)	50	50	50	50	50	50	—
Recouvrement (%)	100	60	30	50	80	80	—
<i>Strate herbacée inférieure</i>							
Hauteur (cm)	10	10	10	10	10	10	10
Recouvrement (%)	70	40	60	70	60	40	50
<i>Bartiera Laurentii</i>	+1	+1	+1	+1	+1	—	2.2
<i>Harungana madagascariensis</i>	+1	—	—	—	—	—	3-4.2
<i>Mitragyna stipulosa</i>	R	—	—	—	—	—	R
<i>Syzygium aff. cordatum</i>	—	—	—	R	—	R	+1.1
<i>Rhynchospora corymbosa</i>	3-4.3	3.2	3.2	3.2	2.2	2.2	2.2
<i>Stipularia africana</i>	3.2	2.2	1.2	2.2	1.2	2.2	4.2
<i>Tacazzea pedicellata</i>	3-4.2	2.2	2.2	1.2	2.2	2.2	3.3
<i>Rhynchospora glauca</i>	+1	—	+1	—	—	+1	—
<i>Bulbostylis laniceps</i>	3.3	1.3	—	1.3	3.3	2.3	—
<i>Xyris decipiens</i> var. <i>Vanderystii</i>	1.2	—	+2	+2	1.2	1.2	—
Graminée n° 2	2.2	1.2	—	1.3	2.2	1.2	—
<i>Cercestis congoensis</i>	+1	+1	+1	—	+1	—	+1
<i>Scleria Bequaertii</i>	+2	1.2	—	—	+2	—	—
<i>Trichopteryx fruticulosa</i>	1.2	+2	—	1.2	1.2	1.3	—
<i>Jardinea gabonensis</i>	1.3	+3	2.3	1.3	1.3	—	2.3
<i>Loudetia phragmitoides</i>	+2	—	—	—	—	—	—
<i>Lygodium scandens</i>	+2	2.2	1.2	1.2	+2	1.2	—
<i>Aframomum Melegueta</i>	—	—	+1	—	+1	—	1.2
<i>Dissotis multiflora</i>	—	—	+2	—	+2	—	+2
<i>Torenia parviflora</i>	—	—	—	—	—	—	+2
<i>Mesanthemum radicans</i>	—	+1	—	—	—	+1	—
<i>Selaginella scandens</i>	4.5	2.2	3.4	2.2	2.2	3.2	3.3
<i>Panicum parvifolium</i>	1.2	2.2	1.2	2.2	1.2	+2	3.2
<i>Utricularia subulata</i>	+1	1.1	—	1.1	1.1	—	—
<i>Sphagnum planifolium</i>	—	—	—	—	—	—	3.3

Relevé 1 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide au nord du premier bosquet isolé de forêt marécageuse.

Relevé 2 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide au sud du premier bosquet isolé de forêt marécageuse.

Relevé 3 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide entre les deux premiers bosquets de forêt marécageuse.

Relevé 4 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide dans la partie est.

Relevé 5 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide dans la partie est.

Relevé 6 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide entre les 2^e et 3^e bosquets de forêt marécageuse.

Relevé 7 : *Esobe* de M'Bolo, partie humide au sud du troisième bosquet de forêt marécageuse.

Tableau XX. — Association à *Bulbostylis laniceps* et *Xyris Vanderysii*.

Numéro des relevés Superficie des relevés (m²) <i>Str. herbacée sup. et fruit.</i> Hauteur (cm) Recouvrement (%) <i>Str. herb. moyenne.</i> Hauteur (cm) Recouvrement (%) <i>Str. herb. inférieure</i> Hauteur (cm) Recouvrement (%)	Association type															Sous-association à <i>Selaginella scandens</i>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
100	100	150	100	100	100	200	150	100	100	100	100	100	100	100	100	100	5.5	2.3	—	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1.2	—	+2	5.5	3.3	+2	1

Association à Bulbostylis laniceps et Xyris Vanderystii.

La formation la mieux représentée et la plus fréquemment rencontrée dans les *esobe* humides est celle où des touffes de Cypéracées et de Graminées constituent des sortes de prairies hautes d'environ 70 cm et où les espèces dominantes sont :

Bulbostylis laniceps, *Trichopteryx fruticulosa*, *Xyris decipiens* var. *Vanderystii*, *Scleria Bequaertii*, et une graminée (n° 2), dont nous n'avons jamais pu récolter les fleurs ou les fruits. Quelques plantes à fleurs colorées émaillent cette prairie : *Sida linifolia*, *Neurotheca congolana*, *Drosera congolana*, *Mesanthemum radicans* ; *Bartiera Laurentii* est le seul arbuste de cette formation.

Elle constitue une association constante en ses lieux d'habitat et caractérisée par *Bulbostylis* et *Xyris*. Les relevés de 1 à 10 du tableau XX la définissent.

Nous l'appellerons *Bulbostyleto-Xyridetum*.

Elle est établie sur une tourbe ferme, épaisse de 10 à 50 cm. Nous l'avons toujours trouvée non pas dans le lit humide des ruisseaux ou rivières d'*esobe*, mais un peu en dehors du plan d'eau, sur les pentes remontant vers les *esobe* secs.

Elle a été pressentie par BOUILLENNE, MOUREAU et DEUSE [11] et se rapproche des tourbières à *Sphagnum* et *Xyris* décrites par DUVIGNEAUD [21, 22] dans les plateaux du Kwango.

Dans les endroits humides, où la nappe aquifère est en surface, elle présente une variante à *Selaginella scandens*.

La végétation y est particulièrement serrée, les touffes sont très rapprochées. Les relevés 11 à 16 en donnent la composition. Cette sous-association fait la transition entre le *Bulbostyleto-Xyridetum* et les associations plus humides du *Jardineetum* et du *Rhynchosporietum corymbosae*.

L'association à Stipularia africana et Syzygium aff. cordatum.

Dispersée dans l'*esobe* humide, le long des petits cours d'eau, il existe une formation arbustive où dominent *Stipularia africana*, *Syzygium aff. cordatum*, *Bartiera Laurentii*, *Harungana madagascariensis*, *Dissotis segregata*.

La densité de la strate arbustive et le caractère de *Stipularia* d'avoir des tiges très densément feuillées amènent la disparition de toute végétation herbacée et la constitution d'un sol nu, très humide et tourbeux.

Tableau XXI. — Association à *Stipularia africana* et *Syzygium aff. cordatum*.

Numéro des relevés	1	2	3	4	5	6
Superficie des relevés (m ²)	200	200	100	150	200	150
<i>Strate arborescente</i>						
Hauteur (cm)	300	400	400	400	400	400
Recouvrement (%)	5	50	10	10	20	10
<i>Strate herbacée supérieure et frutescente</i>						
Hauteur (cm)	200	200	200	200	200	200
Recouvrement (%)	80	100	80	70	70	60
<i>Strate herbacée moyenne</i>						
Hauteur (cm)	50	50	50	50	—	50
Recouvrement (%)	20	80	10	20	—	10
<i>Strate herbacée inférieure et muscinale</i>						
Hauteur (cm)	—	10	10	10	10	10
Recouvrement (%)	—	80	100	20	40	70
<i>Syzygium aff. cordatum</i>	—	+1.1	2.1	1.1	2.1	+1
<i>Mitragyna stipulosa</i>	—	R	—	—	G	—
<i>Xylopia rubescens</i>	—	—	—	R	—	R
<i>Eremospatha macrocarpa</i>	1-2.2	—	—	+2	—	+2
<i>Raphia Laurentii</i>	—	—	—	+1	G	—
<i>Phoenix reclinata</i>	—	—	—	+1	—	—
<i>Anthocleista Schweinfurthii</i>	1.1	—	—	—	+1	—
<i>Psorospermum tenuifolium</i>	—	+1	—	—	—	—
<i>Harungana madagascariensis</i>	—	3-4.1	1.1	1.1	2.1	1.1
<i>Baikiaea insignis</i> sbsp. <i>minor</i>	—	—	—	R	—	—
<i>Bartiera Laurentii</i>	—	2.2	1.1	+1	1.1	1.1
<i>Stipularia africana</i>	3.3	4.2	4.4	2.3	3.3	2.3
<i>Aframomum Melegueta</i>	1.2	1.2	—	1.2	1.2	+2
<i>Jardinea gabonensis</i>	3.3	2.3	1.3	1.3	1.3	1.3
<i>Rhynchospora corymbosa</i>	—	2.2	+2	—	+2	—
<i>Tacazzea pedicellata</i>	—	3.3	—	+2	1.2	+2
<i>Bulbostylis laniceps</i>	—	—	3.3	1.3	—	—
<i>Cercestis congoensis</i>	—	+1	—	+1	+1	+1
<i>Lygodium scandens</i>	—	—	—	1.2	+2	—
<i>Dissotis multiflora</i>	—	+2	2.2	+2	1.2	—
<i>Trichopteryx fruticulosa</i>	+2	+1.2	—	—	—	+2
<i>Dissotis segregata</i>	2.3	—	—	+2	—	—
<i>Schizachyrium kwiluense</i>	+2	—	—	—	—	—
<i>Torenia parviflora</i>	—	+1	—	—	—	—
<i>Mesanthemum radicans</i>	—	—	+2	—	+2	—
<i>Cyrtosperma senegalense</i>	—	+1	—	+2	—	—
<i>Scleria Bequaertii</i>	—	+2	—	—	—	—
<i>Selaginella scandens</i>	—	3.3	—	2.2	—	1.2
<i>Sphagnum planifolium</i>	—	3.3	5.5	—	—	3.3
<i>Panicum parvifolium</i>	—	3.2	—	—	2.2	1.2

Relevé 1 : *Esohe* de M'Bolo, mare dans la partie sèche.

Relevé 2 : *Esohe* de M'Bolo, début de recolonisation forestière aux alentours du bosquet central de forêt marécageuse, partie humide.

Relevé 3 : *Esohe* de M'Bolo, partie humide, formation arbustive près des îlots de forêt marécageuse.

Relevé 4 : *Esohe* de M'Bolo, partie humide, ceinture du bosquet de forêt marécageuse d'amont.

Relevé 5 : *Esohe* de M'Bolo, partie humide, ceinture du bosquet de forêt marécageuse d'aval.

Relevé 6 : *Esohe* de M'Bolo, partie humide, ceinture du bosquet de forêt marécageuse d'aval.

Lorsque ces arbustes atteignent 2 à 3 mètres de hauteur, on trouve à leur pied des germinations d'arbres de la forêt marécageuse tels *Mitragyna stipulosa*, *Xylopia rubescens*, *Cynometra sp.*, *Raphia Laurentii*, *Phoenix reclinata*.

Le tableau XXI rassemble les relevés les plus caractéristiques de ce groupement que nous considérons comme association et appelons *Stipularieto-Syzygietum*.

Cette association s'observe non seulement dans l'*esobe* humide où nous venons de la décrire, mais aussi en bordure de la forêt marécageuse. Elle a été pressentie par W. ROBIJNS [50] qui donne le nom de *Stipularietum africanae* à la zone sous-frutescente des rives des cours d'eaux de la région de Coquilhatville.

3. Les groupements des esobe secs.

Les parties les plus sèches des *esobe* sont couvertes ou bien par le même limon que celui sur lequel est établie la forêt de terre ferme, ou bien par les dépôts graveleux ou sableux des *restingaes*.

Les associations qui les caractérisent sont très différentes de celles qui couvrent les *esobe* humides.

Association à *Hyparrhenia diplandra*.

L'association la plus répandue dans ces deux situations édaphiques est un groupement à grandes graminées parmi lesquelles *Hyparrhenia diplandra* atteint 2 à 3 mètres de hauteur et ne forme pas de touradons.

À côté d'elle, on remarque, comme graminées :

Setaria restioidea, *Setaria sphacelata*, *Rytachne rottboelloides*, *Brachiaria Kotschyana*, *Axonopus flexuosus*, *Panicum Dregeanum*, *Loudetia Vanderystii*, *Rhynchelytrum roseum*, *Bulbostylis laniceps*. On trouve en outre des plantes herbacées comme *Osebeckia congolensis*, *Murdannia simplex*, *Emilia sagittata*, *Indigofera capitata* et des sous-arbustes tels que *Clappertonia ficifolia*.

Le tableau XXII rassemble les principaux relevés faits dans cette association : *Hyparrhenietum diplandrae*. Cet *Hyparrhenietum* a été décrit par ROBIJNS [50] et ressemble à celui des savanes du Sud du Congo [DUVIGNEAUD, 21].

Nous avons observé dans certains *Hyparrhenietum* des parties occupées de manière clairsemée par des arbustes.

L'espèce arbustive la plus commune est *Annona arenaria*.

Tableau XXII. — Association à *Hyparrhenia diplandra* et faciès à *Annona arenaria*.

Numéro des relevés	1	2	3	4	6	8	5	7
Superficie des relevés (m ²)	200	100	100	150	200	100	100	100
<i>Strate arborescente</i>								
Hauteur (cm)	—	—	—	—	—	300	—	400
Recouvrement (%)	—	—	—	—	—	10	—	50
<i>Strate arbustive</i>								
Hauteur (cm)	150	150	150	150	250	—	250	250
Recouvrement (%)	5	5	10	5	10	—	40	40
<i>Strate herbacée sup.</i>								
Hauteur (cm)	200	200	200	200	200	200	200	200
Recouvrement (%)	100	100	100	100	150	80	50	10
<i>Strate herbacée moy.</i>								
Hauteur (cm)	50	50	50	50	50	50	50	50
Recouvrement (%)	30	70	70	60	50	10	10	100
<i>Strate arborescente :</i>						Faciès à <i>Annona</i>		
<i>Anthocleista Liebrechtsiana</i>	—	—	—	—	—	—	—	2.1
<i>Albizzia ferruginea</i>	—	—	—	—	—	—	—	+1
<i>Baikiaea insignis</i> sbsp. <i>major</i>	—	—	—	—	—	—	—	R
<i>Pentaclethra eetveldeana</i>	—	—	—	—	—	—	—	+1
<i>Cnestis urens</i>	—	—	—	—	—	+1	—	—
<i>Cnestis ferruginea</i>	—	—	—	—	—	+1	—	—
<i>Harungana madagascariensis</i>	—	—	—	—	—	—	—	1.1
<i>Gaertnera occidentalis</i>	—	—	—	—	—	—	—	+1
<i>Loranthus</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	R
<i>Tetracera alnifolia</i>	—	—	—	—	—	—	—	R
<i>Hippocratea micrantha</i>	—	—	—	—	—	—	—	R
<i>Strate arbustive :</i>								
<i>Annona arenaria</i>	+1	+1	1.1	+1	1.1	2.2	3.1	2.1
<i>Nauclea latifolia</i>	—	—	+1	—	+1	1.1	+1	+1
<i>Bartiera Laurentii</i>	—	—	R	+1	—	—	—	+1
<i>Clappertonia ficifolia</i>	+1	1.1	1.1	+1	—	1.1	—	+1
<i>Strate herbacée :</i>								
<i>Hyparrhenia diplandra</i>	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	4.4	3.3	1.2
<i>Bulbostylis laniceps</i>	1.2	3.2	2.2	2-3.3	2.2	+2	+2	+2
<i>Setaria restioidea</i>	+1	1.1	1.1	+1	+1	—	+1	+1
<i>Setaria sphacelata</i>	—	1.1	—	—	+1	—	—	—
<i>Rhynchelytrum roseum</i>	1.2	1.2	—	1.1	1.1	—	+1	+1
<i>Brachiaria Kotschyana</i>	—	+1	+1	+1	+1	—	—	—
<i>Rytachne rotboellioides</i>	—	+1	1.1	—	—	—	—	—
<i>Indigofera capitata</i>	+2	1.2	2.2	+2	1.2	+1	—	—
<i>Eriosema glomeratum</i>	+1	+1	+1	+1	+1	—	—	—
<i>Emilia sagittata</i>	+1	+1	1.1	+1	+1	—	—	—
<i>Aneilema sinicum</i>	—	+1	—	—	—	—	—	—
<i>Osbeckia congolensis</i>	—	+1	1.1	—	+1	—	—	—

Elle forme des buissons tortueux aux feuilles très velues, aux troncs et branches recouverts d'une écorce très épaisse. *Nauclea latifolia* s'y rencontre aussi, mais plus rarement. Ces arbustes sont le plus souvent cachés par les hautes tiges d'*Hyparrhenia*.

La question qui est posée par la présence d'arbustes dans les *esobe* secs sera discutée plus loin en tenant compte du fait que certains *esobe* sont brûlés et d'autres pas. Et l'on pourrait croire que le feu de brousse est le facteur qui maintient l'*esobe* sous ses faciès de végétation ouverte et empêche la forêt d'en recoloniser le terrain.

Cependant, dans un *esobe* de la Membe moyenne, *Annona* couvre la moitié de la superficie et porte de nombreux fruits ; les jeunes plantes sont fréquentes. Or, cet *esobe* a été entièrement brûlé à la saison sèche en 1955.

On pourrait émettre l'hypothèse que le feu ne détruit pas nécessairement les *Annona* à part les jeunes rameaux et les feuilles, mais peut en favoriser la floraison et la fructification.

Nous ne croyons pas qu'il faille en faire une association naturelle, nous pensons qu'il s'agit d'un faciès particulier à *Annona*, probablement favorisé par le feu.

Le tableau XXII rassemble quelques relevés faits dans ce faciès.

Il existe toutefois dans l'*Hyparrhenietum* des groupements d'arbustes variés ; ceux-ci se trouvent assez rarement en plein dans les *esobe* secs, mais plus fréquemment dans les zones proches de la forêt de terre ferme. Nous ne signifions pas la lisière de la forêt elle-même. Ces groupements arbustifs qui peuvent prendre un port arborescent, comportent : *Annona arenaria*, *Nauclea latifolia*, *Anthocleista Liebrechtsiana*, *Harungana madagascariensis*, *Bridelia ferruginea*, *Baikiaea insignis*, parmi lesquelles se présentent des espèces de forêt comme *Pentaclethra Eetveldeana*, *Albizia ferruginea*.

Autour de ces bosquets que cette végétation constitue, *Hyparrhenia* est accompagné de *Dicranopteris linearis*, *Lycopodium cernuum* et quelques rares touffes de *Jardinea gabonensis*. Cette formation a été décrite par LÉONARD [37] des environs de Yagambi comme une association pionnière des éboulis meubles : *Gleichenietum linearis* ; elle marque aussi ici la lisière forêt de terre ferme — *esobe* sec sur une largeur de 10 à 20 mètres.

En somme, dans les *esobe* secs que nous avons explorés autour

du lac Tumba, nous avons trouvé une uniformité surprenante de la couverture végétale. A peine un faciès arbustif y existe-t-il.

Les *esobe* secs sont généralement situés sur les surélévations en forme de digues que nous avons appelées *restingaes*.

VIII. Étude des digues en bordure du lac et des rivières ainsi que des prairies flottantes.

Nous nous sommes attachés à examiner la végétation des prairies flottantes bordant les rives du lac Tumba et celle des digues en voie de formation.

Ces digues ont été appelées *restingaes* par LE COINTE [33] et R. BOUILLENNE [10] en Amazonie.

Ce dernier auteur s'exprime en ces termes :

« Pendant les crues, les eaux de l'Amazonie et de ses affluents s'étalent à travers la plaine, à une très grande distance des rives. Les alluvions ne se déposent pas uniformément. Les sédiments pesants et volumineux (grains de sable un peu gros) s'accumulent près des rives ; tandis que les éléments légers se répandent au loin. La bordure des rives se trouve ainsi surélevée par des bourrelets marginaux plus ou moins étroits ; ce sont des *restingaes* ».

BOUILLENNE met l'accent sur l'action de la végétation riveraine et des prairies aquatiques dans l'édification de ces *restingaes*.

ROBERT [48] réserve le nom de « levées alluvionnaires » aux digues formées par le Lualaba dans la région de Kamolondo. Il considère ce phénomène comme classique, mais attribue aux végétaux (*Papyrus*) une simple action de colmatage.

Nous confirmons que le rôle de la végétation est très important : l'existence de prairies flottantes et de zones d'eaux calmes qui en résultent, déterminent directement le dépôt des matériaux alluvionnaires.

BOUILLENNE, MOUREAU et DEUSE [11] ont fait ressortir cette action primordiale dans leur étude des formations végétales des bords du lac Tumba et ont adopté le mot *restinga*. Nous continuerons à l'employer dans ce travail.

1. LES DIGUES OU *RESTINGAES*.

Nous avons examiné particulièrement la *restinga* qui se trouve sur la côte Sud de la presqu'île de Mabali. Elle s'est formée à l'entrée d'une petite baie qui entame ce flanc Sud de la presqu'île, la digue s'avancant en travers de la baie risque de fermer celle-ci. De plus, elle tend à s'élever par accumulation d'alluvions en périodes de crues. Elle est constituée de sable blanc et de fragments désagrégés de la dalle limonitique affleurant en divers endroits des rives et roulés par les eaux du lac. A la période des crues, cette *restinga* est entièrement submergée.

Des prairies flottantes se constituent de part et d'autre de cette digue, plus importantes du côté de la baie que du côté du lac.

Hyparrhenia diplandra est installé tout au sommet ; il s'insinue vers les versants colonisés par les graminées de la prairie aquatique et tend à remplacer celles-ci au fur et à mesure de l'élévation de la digue.

Un relevé pris sur les versants donne :

<i>Jardinea gabonensis</i>	3.3
<i>Jardinea congoensis</i>	+ .3
<i>Rytachne rottboelloides</i>	+ .2
<i>Hyparrhenia diplandra</i>	1.1
<i>Dissotis segregata</i>	+ .1
<i>Vossia cuspidata</i>	r
<i>Vigna sp.</i>	r

Quelques arbres et arbustes y sont implantés :

<i>Parinari sp.</i>
<i>Lonchocarpus griffonianus</i>
<i>Anthocleista Schweinfurthii</i>
<i>Guibourtia Demeusei</i>
<i>Alchornea cordifolia</i>

2. LES PRAIRIES FLOTTANTES.

a) *En eau calme.*

Entre les *restingaes* et les forêts inondées qui bordent les rives, il existe des nappes d'eau calme souvent assez étendues, en

connexion directe ou indirecte avec le lac. Elles sont couvertes par une prairie flottante.

La composition floristique de celle-ci est assez pauvre. C'est une prairie à *Jardinea* presque unispécifique ainsi que l'indique le relevé suivant :

<i>Jardinea gabonensis</i>	5.5
<i>Jardinea congoensis</i>	1.2
<i>Schizachyrium kwiluense</i>	+1.1
<i>Echinochloa pyramidalis</i>	r
<i>Panicum parvifolium</i>	r
<i>Rhynchospora corymbosa</i>	r

b) *En eau agitée.*

Sur le versant de la *restinga* orienté vers les eaux du lac, la prairie aquatique a une composition voisine, mais la répartition des espèces qui la composent est différente.

Une première frange est constituée par *Panicum parvifolium* et *Echinochloa pyramidalis* flottants.

La deuxième est composée de *Jardinea gabonensis* et *congoensis* et de *Vossia cuspidata*. Elle constitue la plus grande partie de la prairie avec seulement par endroits des îlots de *Rhynchospora corymbosa* ou de *Cyrtosperma senegalense*.

Le contact de ces prairies avec les *restingaes* ou la forêt marécageuse, est généralement formé par une Mélastomacée ligneuse *Dissotis segregata*.

La composition floristique de ces prairies aquatiques à *Jardinea* est très voisine du *Jardineetum gabonensis* des *esobe*.

Nous la considérons comme une variante à *Jardinea* de l'*Echinochloetum pyramidalis* décrit par LÉONARD [37] en 1950.

Dissotis segregata qui borde les prairies aquatiques à leur lisière avec les autres formations se retrouve autour des *esobe* très humides. *Schizachyrium kwiluense* et *Rhynchospora corymbosa* sont présents dans les deux types de formation. *Cyrtosperma senegalense* a une aire de dispersion plus vaste ; nous l'avons signalé dans les prairies aquatiques et les *esobe* humides, il existe aussi dans la forêt marécageuse.

L'étude de la végétation des prairies aquatiques, celle des *restingaes* et celle des marécages qui se maintiennent entre les digues et la côte montrent la grande ressemblance qu'il y a entre ces formations et certains faciès des *esobe* humides.

IX. Étude de l'évolution de la végétation des *esobe*.

Nous avons décrit dans le chapitre IX les diverses associations végétales des *esobe*, humides et secs. Il convient à présent de rechercher l'origine de ces associations, leur évolution et leurs affinités.

Comme nous l'avons décrit, des endroits d'eau libre existent dans l'*esobe* humide, la végétation y est aquatique avec *Utricularia*, *Eleocharis*, *Eriocaulon* et *Nymphaea*. C'est l'*Utricularieto-Nymphaeetum*.

En dehors de ces mares, les parties les plus basses des *esobe*, inondées périodiquement sont couvertes par l'association *Jardineetum gabonensis*. Elle est très semblable dans sa composition à certaines prairies aquatiques enracinées à l'abri des *restingaes* où *Jardinea* est la plante dominante. Nous pensons donc que le *Jardineetum* et l'*Utricularieto-Nymphaeetum* sont des groupements initiaux des *esobe* humides et dérivent des prairies flottantes qui se sont enracinées.

Ces deux associations sont rapidement envahies par le *Sphagnetum planifolii* nageant à la surface des mares ou couvrant le sol entre les touffes de *Jardinea*.

Sur une faible profondeur d'eau, *Sphagnum* s'associe à *Mesanthemum radicans* et si l'exondaison continue et que le sol se raffermisse, une autre association s'installe ; le *Bulbostyletum* dans sa sous-association à *Selaginella scandens* et le *Bulbostyletum* type. Cette dernière association paraît stable.

Les têtes de sources des petits cours d'eau ne portent pas de tapis de *Sphagnum* mais étalent un suintement d'eau légèrement courante couvert par la végétation à *Schizachyrium kwiluense*.

En aval de ces têtes de sources, le lit généralement large et très peu encaissé des rivières a, comme il a été dit plus haut, un aspect marécageux et tourbeux ; il est, en priorité, colonisé par une formation à *Rhynchospora corymbosa* dans laquelle s'installent quelques arbustes comme *Stipularia africana* et *Syzygium aff. cordatum*.

Ces strates arbustives préparent le terrain aux espèces pionnières de la forêt marécageuse et, pour autant que des incendies

ne viennent pas les ravager, la forêt marécageuse elle-même s'implante.

Sur les pentes peu inclinées des versants des rivières, l'association à *Bulbostylis* s'étale largement. Elle est en fait une fin d'évolution des terrains tourbeux humides où la nappe aquifère n'affleure pas et se trouve un peu en dessous de la surface. Cette association est la moins humide de celles des *esobe* tourbeux. Un seul arbuste, *Barteria Laurentii*, réussit à s'y installer çà et là.

Un point délicat et non encore élucidé apparaît dans le fait qu'*Hyparrhenia* existe dans le *Bulbostyleto-Xyridetum*, alors que cette graminée caractérise généralement les *esobe* secs et qu'on la trouve prospérant sur limon ou sur sable et grenailles limoniques des sommets de *restingaes*.

La présence d'*Hyparrhenia* dans les *esobe* humides pose la question de savoir si cette graminée peut s'introduire dans l'association à *Bulbostylis* et *Xyris* sur tourbe, parce que la tourbe évolue par endroits vers une certaine fermeté et s'exonde.

Bulbostylis, de son côté, se trouve aussi bien sur limon que sur sable et tourbe, mais il est assez rapidement éliminé par les hautes tiges d'*Hyparrhenia*, dans les endroits secs.

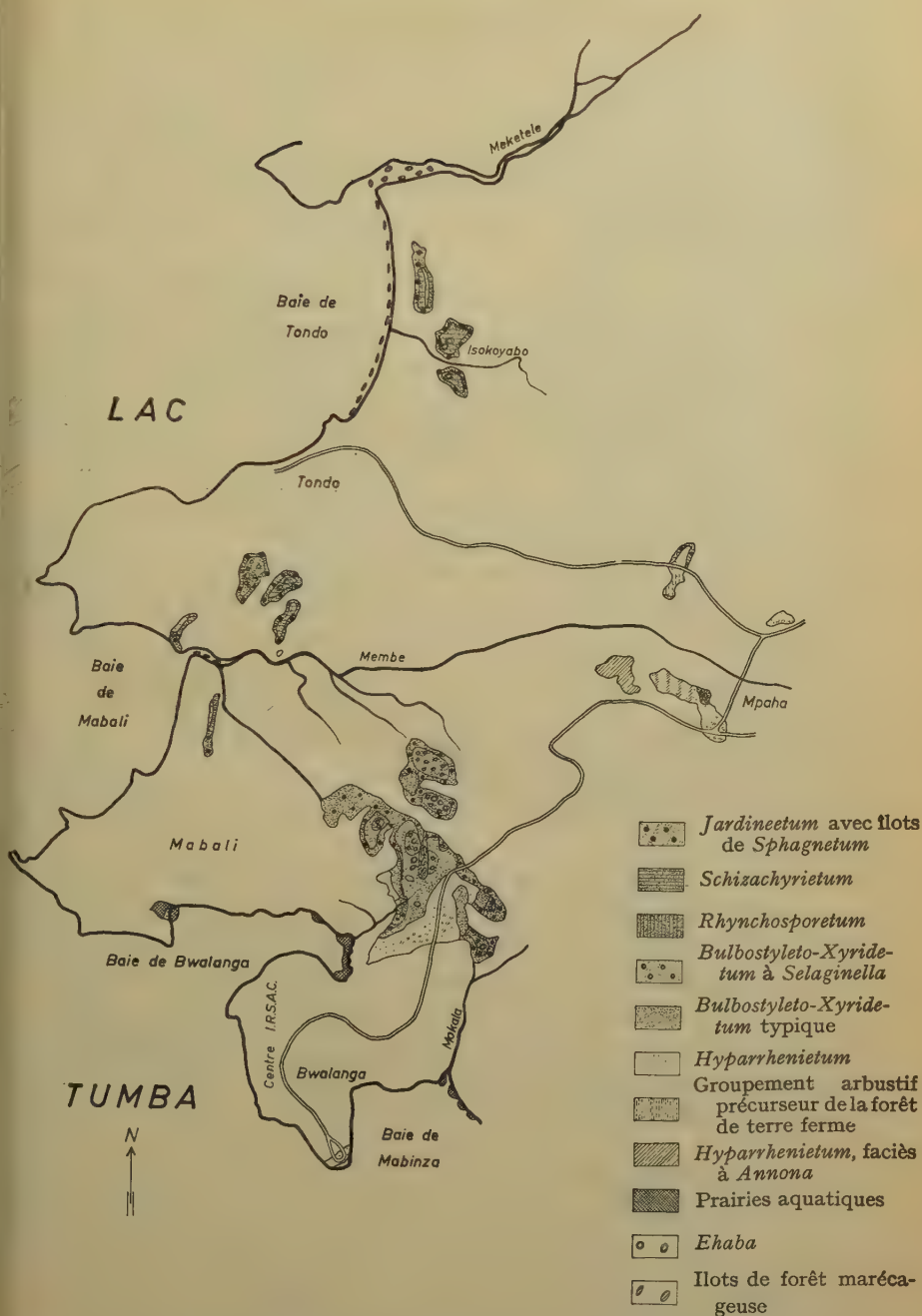
D'après J. MOUREAU ⁽¹⁾ lorsque l'*Hyparrhenietum* est incendié, les premières graminées à réapparaître sont *Bulbostylis laniceps* et *Rhynchelytrum repens*, mais elles sont vite étouffées par *Hyparrhenia*.

Le passage du *Bulbostyletum* vers l'*Hyparrhenietum* pourrait se faire, lorsque, dans un *esobe* humide en voie d'assèchement, certains facteurs destructeurs de tourbe, interviennent : le feu, une décomposition rapide de tourbe, un ruissellement un peu intense, un dépôt d'alluvions graveleuses, etc.

Enfin, d'après certains auteurs, il y aurait dans les *esobe* deux espèces différentes d'*Hyparrhenia* dont l'une pourrait éventuellement s'accommoder de substrat plus humide et plus acide que l'autre. Ce point demande à être étudié plus avant.

Dans les *esobe* secs, l'association dominante est un *Hyparrhenietum diplandrae*. C'est sur sol limoneux plus ou moins profond qu'elle couvre les plus grandes étendues. Elle y est accompagnée d'arbustes à écorce épaisse et branches tortueuses : *Annona arenaria* et *Nauclea latifolia*.

(1) Communication verbale de J. MOUREAU, chef du Centre de Mabali.



Carte 3. — Répartition des associations végétales dans les esobe de la région du lac Tumba.

Ce faciès arbustif de l'*Hyparrhenietum* peut être très développé comme il l'est dans un des *esobe* de la Membre moyenne. L'abondance de deux arbustes seulement pourrait être expliquée par l'action répétée du feu. Ailleurs, d'autres arbustes et arbres sont installés autour des buissons d'*Annona* ; ce sont des *Harungana madagascariensis*, *Anthocleista Liebrechtsiana*, *Albizzia sp.*, *Pentaclethra Eetveldeana*. Ils sont entourés par le *Gleichenietum linearis*.

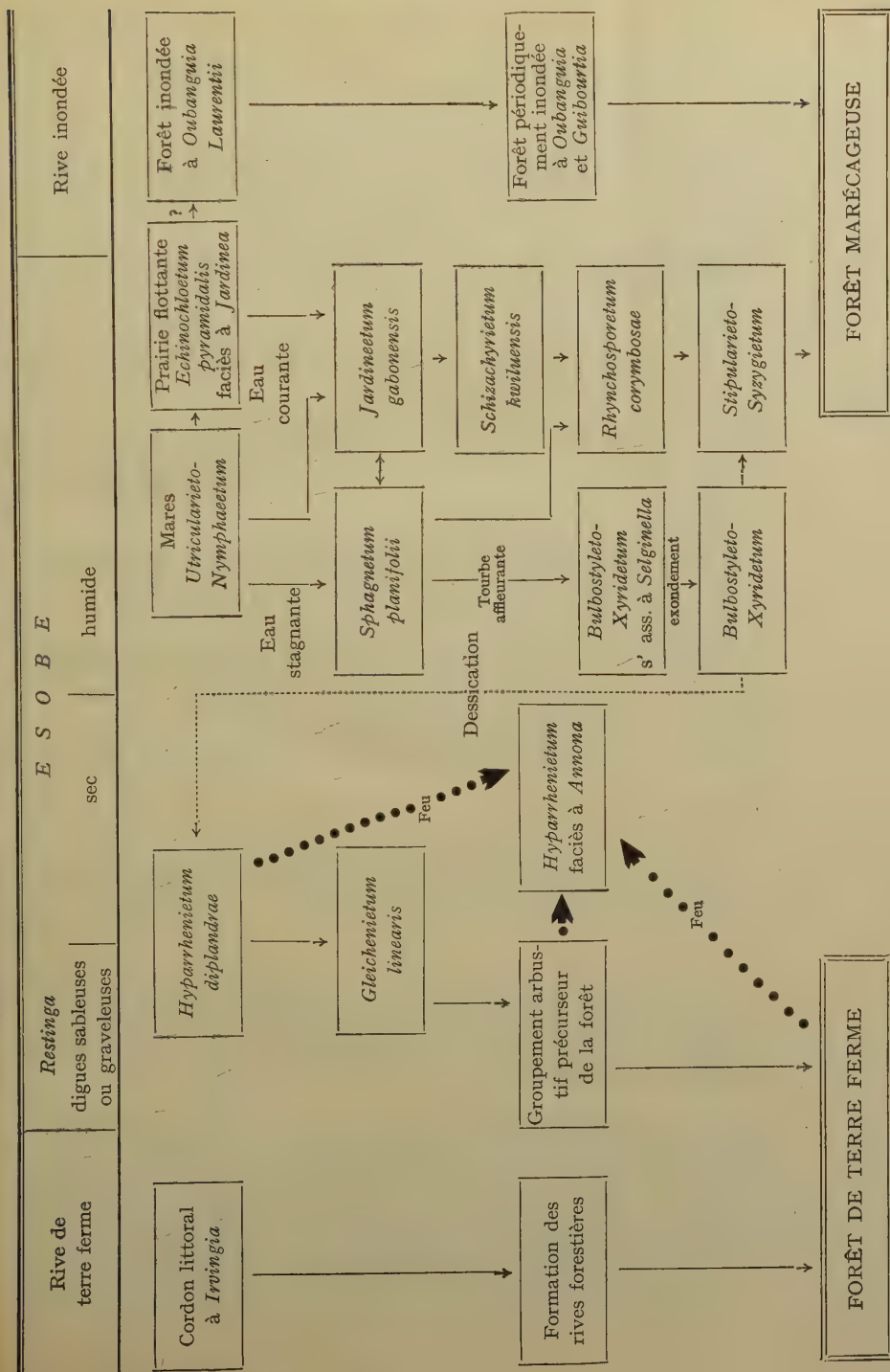
La richesse en arbustes est surtout marquée lorsque l'*esobe* sec se trouve en lisière avec la forêt de terre ferme. Il en résulte que l'évolution de cet *Hyparrhenietum* des *esobe* secs est orientée par l'installation de buissons d'*Annona* et autres arbres ou arbustes vers l'introduction des espèces forestières ; ce qui revient à dire que l'*esobe* sec nous paraît être en train de se transformer actuellement en forêt de terre ferme. Si le feu intervient dans ce processus, l'évolution s'arrête au stade *Annona*.

D'autre part, l'*Hyparrhenietum* peut s'installer sur les sables et graviers des *restingaes*. Dans ces conditions, l'évolution de ce groupement vers la forêt de terre ferme est moins nette. Il est probable que la pauvreté de ces sols ralentit les phénomènes de forestation.

En conclusion, on observe pour les divers types d'*esobe* une évolution vers des groupements forestiers : pour les *esobe* humides, vers les forêts hydromorphes, pour les *esobe* secs, vers la forêt de terre ferme.

Le *tableau XXIII* fait la synthèse de l'évolution des diverses associations dans le cadre des grandes formations végétales de la Cuvette centrale. Les lignes continues indiquent les relations unissant les associations reconnues dans les *esobe*. Les tirets figurent les relations que nous supposons exister entre quelques associations, mais dont nous n'avons pas encore de preuves irréfutables. Les lignes de gros points figurent l'évolution résultant de l'action du feu.

Tableau XXIV. — Schéma de l'évolution des associations végétales des *esobé* en rapport avec les formations de Cuvette centrale congolaise.



X. Considérations sur l'origine des *esobe*.

Nous avons montré que les *esobe* possèdent des types de végétation particulière et un microclimat différent de celui des formations forestières de terre ferme de la Cuvette centrale. Nous avons recherché les relations qui existent entre les prairies flottantes, les *esobe* humides et la vocation forestière marécageuse de ces derniers. Nous avons établi que les *esobe* secs évoluent vers une formation forestière de terre ferme pour autant que le feu n'arrête pas cette évolution.

Elle est rapide là où il y a un sol limoneux ; elle est lente sur les sables et graviers limonitiques des sommets des *restingaes*.

Il n'en reste pas moins que la présence des *esobe* au sein de la Cuvette centrale pose plus d'un problème.

Comment ces types de végétation ouverte sèche ou marécageuse se sont-ils établis en plein milieu forestier et quelle est l'origine de leur flore ?

ROBIJNS [50] considère les *esobe* des environs de Coquilhatville comme des savanes naturelles édaphiques dont la composition floristique est celle des savanes primaires, sans trace de forêts antérieures et leur existence est liée à un sol particulier.

Il émet l'hypothèse que

« ...les *esobe* seraient constitués de sols alluvionnaires et seraient des formations riveraines relativement récentes ».

Ce seraient

« ...d'anciens bancs de sable attachés aux rives par colmatage naturel d'un bras de la rivière ou d'anciennes lagunes actuellement ensablées et en voie d'assèchement ».

Au point de vue de l'origine des espèces qui occupent ces savanes équatoriales, ROBIJNS émet l'hypothèse qu'elles auraient existé depuis la fin du Secondaire dans des clairières de la grande forêt, clairières dont l'étendue aurait varié suivant les changements climatiques apparus au cours des temps géologiques.

Les observations que nous avons faites dans les *esobe* du lac

Tumba nous amènent à penser que l'origine édaphique de ces savanes est incontestable.

En effet, nous avons constaté que le long du Congo, des rivières et en de nombreux endroits en bordure du lac, sous les prairies flottantes, se constituent des dépôts alluvionnaires qui finissent par être exondés aux eaux basses. Ces sortes de digues ou *restingaes*, comme nous les avons appelées, sont colonisées sur leurs parties supérieures et sur leurs flancs par des groupements végétaux qui favorisent à leur tour et augmentent les processus d'alluvionnement. Ces terrains plus ou moins vastes finissent par perdre le contact avec les eaux lacustres sauf dans le lit des rivières elles-mêmes.

Sur les sommets des *restingaes*, nous avons vu s'installer les plantes pionnières de la forêt de terre ferme et les espèces de celles-ci ; dans les dépressions humides qui se constituent le long de leur bord interne et les séparent des rives, se fixent des associations de plantes de terrains acides, préparant la formation de faciès tourbeux, ainsi que l'arrivée par place des espèces pionnières de la forêt marécageuse établies sur tourbe.

D'ailleurs, les conditions dans lesquelles se forment les *restingaes* ainsi que les différentes étapes vers les faciès forestiers ont également été aperçues en Amazonie et ont été décrites par LE COINTE [33] et par la mission biologique belge au Brésil [BOUILLENNE, 9, 10].

Selon nous, les *esobe* disparaissent progressivement sous le couvert soit des forêts marécageuses, soit des forêts de terre ferme. Il s'en reforme continuellement au fur et à mesure de l'alluvionnement. Ils correspondent à l'exondement progressif du pays.

A présent, il convient de rechercher d'où viennent ces groupements de végétation ouverte qui se maintiennent sur les alluvions récentes dans le monde forestier de la Cuvette centrale. La paléobiogéographie peut nous donner des éléments propres à éclairer ce problème.

Nous nous limiterons dans cet exposé à la région de la Cuvette centrale et à la période commençant au Tertiaire.

Il est établi qu'à l'époque tertiaire, l'Afrique était couverte comme actuellement par des forêts équatoriales ombrophiles, des savanes, des steppes et des déserts [ROBERT, 47 ; LEBRUN, 31 ;

VAN STRAELEN, 59 ; de HEINZELIN, 14 ; MORTELMANS, 43 ; TROUPIN, 58].

L'étendue respective et la position géographique de ces formations à cette époque ne sont pas clairement définies ; elles ont pu être modifiées par les variations climatiques dans le cadre des changements de position de l'équateur thermique [MILANKOVITCH, 39].

A la fin du Tertiaire, ou au début du Quaternaire, une grande perturbation climatique s'est étendue sur l'Afrique centrale : une période chaude et aride s'est installée (ROBERT, MORTELMANS, LEBRUN, DE HEINZELIN, TROUPIN). Elle a provoqué la régression des forêts ombrophiles et leur remplacement par des formations végétales de plus en plus sèches.

Des savanes se sont substituées à la forêt. A ce moment, les zones abandonnées par la forêt ombrophile ont été envahies par des espèces venant d'Asie et d'Afrique du Sud et des échanges de flores ont pu se réaliser du Nord au Sud et inversement [TROUPIN, 58].

Les saisons nettement différenciées ainsi qu'une longue période de *sheet erosion* mettant à nu les anciens niveaux de la nappe phréatique ont pu provoquer l'induration de ces niveaux et la constitution d'une carapace ferrugineuse sur une grande partie de l'Afrique centrale. AUBREVILLE [2, 4] le signale pour l'Afrique occidentale et centrale : Haute-Gambie, Soudan, Haute-Côte d'Ivoire, Oubangui-Chari.

« D'immenses dalles se sont formées, dans le sol, près de la surface, à la fin de l'époque tertiaire, et au cours du Quaternaire qui ont fixé pour un temps le modelé du sol. Ce sont des carapaces qui affleurent dans les *bové* de Guinée à des altitudes très variables : de 60 à 1.200 m. »

Cette carapace se retrouve partout dans la Cuvette centrale congolaise où elle a été ultérieurement recouverte par des dépôts éoliens ou alluvionnaires. Elle n'existe pourtant pas sous les *esobe* que nous avons étudiés. Des sédiments éoliens se sont déposés sous forme de dunes. Le paysage présentait donc déjà un relief vallonné à la fin de la période aride [DE HEINZELIN in DE LEENHEER, D'HOORE et SYS, 15]. Ce sont les limons sableux de Coquilhatville et de Mabali qui surmontent la carapace ferrugineuse.

Après cette époque, le climat s'humidifie. Les grandes périodes

pluviales et interpluviales du Quaternaire ont pu être nettement définies dans l'Est du Congo. Dans la Cuvette centrale, il semble que ces changements climatiques aient été atténués [CAHEN, 13].

De toute manière, le climat est dans l'ensemble plus humide qu'à la période précédente et permet la réinstallation de la forêt humide dense qui avait dû, pendant les périodes sèches, se réfugier sur la côte atlantique de Guinée où elle n'a pas subi de manière aussi nette la dessiccation de l'Afrique centrale.

Des cours d'eau se réinstallent et creusent leurs lits, ils érodent d'abord les couches de limon puis les couches de la carapace sous-jacente.

Le fleuve Congo n'existait pas encore dans son tracé actuel. La Cuvette centrale déprimée n'aurait pas eu d'exutoire vers la mer. Pendant un certain temps, elle aurait constitué un bassin fermé. Certaines vallées ont été noyées et un lac, dont les lacs Tumba et Léopold II actuels pourraient être les restes, aurait dû se former dans la partie la plus basse.

Selon CAHEN [13], son existence n'a pas été de très longue durée et sa profondeur pas très considérable, car aucune trace de dépôt lacustre ne se trouve sur les crêtes de terre ferme de la région au-dessus de la carapace ferrugineuse.

Une rivière ayant capté le lac de la Cuvette aurait provoqué son raccord avec le Stanley-Pool. A peu près simultanément, un petit fleuve côtier, par érosion remontante, aurait capté le Stanley-Pool et aurait ainsi provoqué le tracé actuel du Congo inférieur.

Les phénomènes d'alluvionnement ont eu lieu autrefois comme actuellement sous l'influence de végétations aquatiques flottantes. Sur les *restingaes* finalement constituées, se sont installés des groupements végétaux du type savane qui devaient nécessairement se trouver dans les environs quand les eaux ont provoqué le début des alluvionnements et que les forêts ont envahi les savanes pléistocènes. L'origine de la flore des *esobe* doit, selon nous, remonter à la fin du Tertiaire.

Ainsi donc, pendant que la forêt guinéenne réenvahissait progressivement la Cuvette et se substituait aux végétations de savane qui l'occupait au Pléistocène, nous pouvons considérer que les alluvionnements en bordure des rivières ont pu constituer des refuges pour la végétation héliophile de cette époque.

Une des difficultés qui se présentent à nous, lorsque nous interprétons l'origine des *esobe*, comme étant due à des alluvionnements en bordure du lac et des rivières, provient de ce que certains *esobe* se trouvent à des niveaux qui ne sont jamais atteints actuellement par les eaux du lac, même en crue.

Si nous acceptons que les *esobe* les plus anciens correspondent à des époques où le niveau des eaux du lac Tumba était plus haut qu'aujourd'hui, il est naturel de penser que le niveau des eaux du lac Tumba a baissé au fur et à mesure de l'approfondissement du lit du fleuve Congo, entraînant la constitution de *restingaes* successives à des niveaux de plus en plus bas.

Une autre difficulté existe quand il s'agit de tenir compte du fait que le lac a actuellement l'aspect de vallées noyées. La surface des eaux se maintient aujourd'hui à un niveau plus haut que celui du Congo lui-même, bien que la distance qui les sépare soit très faible. Aucune mesure précise n'est encore apportée. Cependant, les observations faites au chenal d'Irebu qui relie le lac Tumba au Congo, précisent que même en crue, les eaux du fleuve ne refluent pas loin dans le chenal et que jamais elles ne se mélangent dans le lac.

Il en résulte que, en période de hautes eaux, le lac Tumba se vide difficilement et apparaît comme étant en train de refluer dans les vallées. La difficulté s'explique par l'existence, à l'embouchure du chenal d'Irebu vers le Congo, d'une longue *restinga* dont les alluvions viennent rétrécir l'exutoire du lac vers le fleuve.

Le lac, dans son état actuel, apparaît donc comme relativement récent. Les observations de MARLIER [38], LELEUP [34], DUBOIS [20] et LAURENT [29] concordent à considérer le lac Tumba comme très jeune.

Quant à l'origine de la flore des *esobe* humides qui est du type tourbeux, nous ne pouvons évidemment imaginer qu'elle trouve son origine dans la flore sèche du Tertiaire ou du début Quaternaire. Cette flore tourbeuse est constituée d'un ensemble d'espèces caractéristiques de conditions écologiques humides et acides.

Les associations de la série tourbeuse semblent actuellement provenir de la flore des prairies aquatiques. Nous avons montré que les prairies flottantes peuvent s'enraciner sur les bancs d'alluvions dont elles ont provoqué le dépôt lorsque ceux-ci viennent

affleurer aux eaux basses, mais dans ces endroits, elles sont ultérieurement éliminées par les groupements d'*esobe* sec, au fur et à mesure de l'exhaussement. Dans les parties se trouvant derrière les *restingaes* où l'alluvionnement continue à se faire plus lentement et où la prairie reste flottante plus longtemps, les conditions d'humidité persistent même après que les eaux du lac n'entrent plus en contact avec la dépression. L'enracinement de la prairie flottante se fait là dans des conditions qui installent de manière stable les groupements des *esobe* humides. Ceux-ci se mêlent aux espèces de la prairie enracinée. *Sphagnum* intervient, ainsi que quelques autres espèces dont nous avons parlé (*Xyris*, *Mesanthemum*, *Eriocaulon*).

A notre avis, les espèces qui constituent cette flore n'ont pu se présenter en Afrique centrale qu'au moment des périodes pluviales et interpluviales, mais l'on manque d'informations sur leur localisation en ces époques. Il n'en reste pas moins vrai que *Sphagnum* peut être transporté à longue distance accroché aux pattes des oiseaux migrateurs et qu'au fond, il n'y a pas grande difficulté à accepter l'arrivée de *Sphagnum* dans les endroits de marécages tourbeux même sous l'Équateur.

La question de savoir d'où vient l'acidité, est délicate et nous n'avons pas pu la rechercher systématiquement. Si, en Europe, l'acidité des tourbières provient de l'action des tapis de *Sphagnum* libérant dans le milieu des acides du type succinique comme l'a démontré J. RAMAUT [45, 46], nous hésitons à attribuer ici au *Sphagnum* seul un tel rôle, car cette mousse ne forme pas des tapis très épais et ne s'étale pas sur des grandes étendues. Le problème de l'origine de l'acidité des *esobe* humides et des forêts marécageuses et en somme des eaux du lac Tumba reste posé.

Les *esobe* humides ont une flore particulière liée à cette acidité et la succession des associations qui s'oriente vers la constitution du climax forêt marécageuse est sous la dépendance de facteurs différents de ceux qui jouent sur les *restingaes* sèches où la végétation évolue vers la forêt de terre ferme.

LELEUP [34] constate que

«...la faune entomologique humicole des prairies tourbeuses naturelles est qualitativement plus riche que la faune de l'humus des forêts de terre ferme.

» De même la forêt du type inondé enserrant partiellement le lac Tumba, comporte de très vieilles reliques plus ou moins ripicoles qui, dit-il, ont pu suivre ce type de couvert dans la progression vers le centre de la Cuvette, comme l'atteste la découverte d'un nouveau genre de Coléoptère scaritide anophtalme... »

Il semble que la richesse des *esobe* tourbeux humides corresponde selon LELEUP, à une ancienneté plus grande que celle des *esobe* secs et des forêts de terre ferme. C'est possible, bien qu'à la fin du Tertiaire et au début du Quaternaire, l'Afrique centrale subissait un climat aride et que les conditions de type marécageux et aquatique ne pouvaient pas être très largement répandues.

L'on pourrait attribuer aussi la richesse de faune observée par LELEUP à la grande variété des conditions écologiques existant dans les forêts marécageuses et dans les *esobe* humides.

TROUPIN [58], étudiant la végétation du Parc national de la Garamba, recherche l'origine des espèces de la flore des savanes entourant actuellement la forêt ombrophile équatoriale en Afrique. En ce qui concerne certaines espèces qui se rencontrent dans les savanes périphériques, mais ne se retrouvent plus dans les savanes à climat tropical plus accentué, il pense que l'on pourrait trouver leur origine dans les *esobe* de la forêt ombrophile équatoriale ou dans toute autre formation édaphique existant au centre de l'Afrique sous climat équatorial avant l'apparition de l'homme. L'auteur estime, en effet, que si la localisation actuelle de certaines savanes est d'origine anthropique, on ne peut attribuer la même origine à la flore qui compose ces savanes.

BOUILLENNE, MOUREAU et DEUSE ont mis en évidence le fait que certains *esobe* du type sec sont petit à petit envahis par les espèces de la forêt de terre ferme évoluant d'abord vers des faciès arbustifs puis forestiers. Nous avons confirmé cette évolution et selon nous, l'apparente stabilité de l'aspect de savanes serait due à l'action répétée du feu, facteur essentiellement anthropique.

Constatant toutefois que les *esobe* secs se sont installés sur des digues de sable ou de gravillons ferrugineux constituant des sols peu aptes à la colonisation par la forêt, il serait permis de supposer que des formations herbeuses similaires ont existé depuis l'époque de la formation des premières *restingaes*, c'est-à-dire à un moment où la forêt guinéenne n'avait pu encore remplacer partout les savanes préexistantes.

De migrations en migrations, d'un *esobe* vers un autre voisin, mais pédologiquement plus jeune, il est possible de croire à l'origine ancienne de ces formations édaphiques, mais on ne peut cependant pas concevoir leur existence avant les périodes pluviales et interpluviales du Quaternaire.

LÉONARD [36] attribue aux *esobe* une origine analogue à celle des savanes anthropiques provoquées et maintenues par les feux et les défrichements forestiers.

Il constate que la flore des *esobe* (il s'agit d'*esobe* secs) est identique à celle des grandes savanes herbeuses situées à la périphérie de la cuvette congolaise. Cette flore ne persiste qu'à la faveur des incendies allumés par les indigènes.

La présence de cette flore de savane au cœur même de la forêt dense humide, montre avec quelle facilité pénètrent et s'installent en région forestière les avant-gardes de la savanisation.

La description attentive des conditions édaphiques et de la flore des *esobe* secs et humides nous permet d'affirmer que ces groupements végétaux ouverts inclus dans la forêt *ne sont pas d'origine anthropique*. Cela ne veut pas dire cependant que pour nous le feu n'y joue aucun rôle car, en effet, beaucoup d'*esobe* sont ravagés par le feu, mais celui-ci a pour conséquence de bloquer leur évolution.

D'autre part, dans la région de Mabali, les associations herbeuses faisant suite à des défrichements ou apparues après l'abandon d'un village sont d'un tout autre type. Ce sont des savanes à *Imperata* ou à *Pennisetum* où la recolonisation forestière est beaucoup plus rapide.

Nous pensons donc qu'il faut considérer les *esobe* tourbeux comme des reliquats d'une des premières formes de végétation apparue dans les endroits humides en voie d'exondement et les *esobe* secs, comme étant colonisés par les vestiges des végétations de savane ayant couvert le centre de l'Afrique à la fin du Tertiaire.

Nous les trouvons encore aujourd'hui grâce aux formations de *restingaes* successives où les conditions édaphiques favorables sont renouvelées à chaque nouvelle digue arrivant à affleurer au-dessus du niveau des hautes eaux. Ils sont appelés à disparaître devant la lente installation de faciès forestiers de terre ferme. Ils peuvent être maintenus sous les faciès de végétation ouverte par l'action de certains facteurs anthropiques comme le feu.

XI. Conclusions.

Pendant l'année 1955, nous nous sommes attachés à étudier au point de vue écologique et phytosociologique, quatorze *esobe* de la rive Est du lac Tumba entre Bikoro et le Centre de Recherches scientifiques de l'I. R. S. A. C. à Mabali.

Nous nous sommes intéressés plus particulièrement à l'*esobe* de M'Bolo qui fait partie du domaine de l'I. R. S. A. C. parce que d'une part, il est le plus grand et le plus diversifié et que, d'autre part, il est considéré par les indigènes comme « sacré » : il n'était point parcouru, il n'a jamais été cultivé et ne semble avoir subi d'incendies que très rarement.

Nous avons tenté de résoudre la question de savoir quels sont les facteurs écologiques qui pourraient expliquer la présence, au sein de la forêt équatoriale dense, de ces faciès de végétations ouvertes découpés comme à l'emporte-pièce dans le domaine forestier.

Nous avons fait plus de deux cents relevés dans les divers *esobe*. Bon nombre d'entre ces relevés se répètent ; nous n'avons reporté dans les tableaux qu'un seul exemple par groupe. Ces relevés ont pu nous permettre d'établir les caractéristiques de la végétation de ces *esobe*, le sens de son évolution et les climats vers lesquels elle s'oriente.

Les *esobe* ont été étudiés par W. ROBIJNS (en 1936), qui leur attribue une origine édaphique, par J. LÉONARD (en 1952), qui les considère comme les avant-gardes d'une savanisation s'insinuant progressivement dans la forêt par suite des entreprises humaines et par BOUILLENNE, MOUREAU et DEUSE dans le cadre d'une étude préliminaire de la végétation du domaine de l'I. R. S. A. C.

1° Nous avons constaté que tous les *esobe* étudiés se trouvent localisés, soit en bordure du lac, soit en bordure du fleuve Congo ou des rivières. Ce fait peut-être généralisé à l'ensemble des *esobe* du Congo et de ses affluents dans la Cuvette ; il apparaît clairement si l'on survole par avion le cours du Congo entre Kwamouth et Lisala.

2° Nous avons caractérisé le climat régional de Mabali pendant les années 1954 et 1955 :

Pluviosité annuelle dépassant deux mètres.

Température moyenne de l'air de $25^{\circ}8'$ avec une amplitude de 8° C.

Humidité relative élevée variant pendant la journée de 74 % à 91 %.

Déficit de saturation passant pendant le jour de 2,6 à 9,6 mb.

Rayonnement journalier de 200 cal-g/cm^2 .

Température du sol élevée à tous les niveaux observés et constante à 50 centimètres de profondeur.

3° Nous avons installé des stations microclimatiques dans les deux types d'*esobe* sec et humide ainsi que dans le sous-bois forestier. Nous avons comparé toutes ces observations avec celles de la station générale.

4° Les microclimats des *esobe*, dans leurs parties humides et sèches se distinguent de l'ambiance forestière par les caractéristiques particulières que voici :

La pluviosité enregistrée dans les *esobe* n'est que les 80 % de celle reçue par la forêt.

La température moyenne de l'air est plus basse d'un degré dans les *esobe* que dans la forêt ; son amplitude moyenne est de 3 degrés supérieure à celle de la forêt.

L'humidité relative est moins élevée (68 à 86 %) et le déficit de saturation plus marqué (4 à 12,6 mb) dans les *esobe* que dans la forêt où l'humidité est de 72 à 90 % et le déficit de saturation 2,9 à 11,7 mb.

Le rayonnement journalier moyen reçu par les *esobe* n'est que 83 % de celui reçu par la forêt (*esobe*: 182 cal-g/cm^2 , forêt 218 cal-g/cm^2).

Les températures du sol de l'*esobe* sec limoneux sont du même ordre que celles du sol de la forêt. Celles du sol de l'*esobe* humide tourbeux sont plus basses qu'en forêt.

5° La végétation des *esobe* n'est pas homogène ; elle comporte deux séries phytosociologiques : celle des *esobe* humides et celle des *esobe* secs.

6° La végétation des *esobe* humides est de caractère tourbeux : elle forme de la tourbe et vit sur de la tourbe. Cette tourbe n'est jamais plus épaisse qu'un mètre ; elle surmonte un sable très blanc, à grains très fins, reposant lui-même sur un fond de kaolin blanc caractéristique de toute la région.

7° Les associations qui caractérisent les *esobe* humides sont :

a) Dans les mares d'eau permanente et noire l'*Utricularieto-Nymphaetum* ;

b) Dans les parties basses et inondées périodiquement, le *Jardineetum gabonensis* ;

c) L'association turfigène *Sphagnetum planifolii* qui se développe aux dépens des deux premières ;

d) Dans les dépressions d'eau légèrement courante, et aux endroits de suintement d'eau des sources, *Schizachyrium kwiluense* forme une prairie dominant quelques autres espèces, *Loudetia phragmitoides*, *Cyrtosperma senegalense*, *Dissotis segregata*, au point que nous lui avons donné le nom de *Schizachyrietum kwiluensis* ;

e) Les ruisseaux dont le lit est d'habitude largement étalé, peu profond, montrant de vastes surfaces de tourbe sur lesquelles glisse une pellicule d'eau, sont occupés par le *Rhynchosporietum corymbosae* caractérisé par une végétation herbacée luxuriante dans laquelle domine *Rhynchospora corymbosa* parmi *Stipularia africana*, *Jardinea gabonensis*, *Tacazzea pedicellata*, *Lygodium scandens*...

f) Une association arbustive *Stipularieto-Syzygietum* où *Stipularia africana* et *Syzygium aff. cordatum* voisinent avec *Aframomum Melegueta*, *Bartiera Laurentii*...

Elle existe au bord des mares et le long des ruisseaux où elle s'insinue dans le *Rhynchosporietum* ou le *Schizachyrietum* et enfin en bordure des couverts de la forêt marécageuse. Cette association se montre le point de départ d'une colonisation d'espèces arborescentes appartenant au groupement des forêts marécageuses.

g) En dehors du lit tourbeux des ruisseaux, les faibles versants également tourbeux portent une association herbacée : le *Bulbostyleto-Xyridetum* caractérisé par *Bulbostylis laniceps*, *Xyris Vanderystii*, *Mesanthemum radicans*, *Trichopteryx fruticulosa*, *Lycopodium carolinianum*... Une variante à *Selaginella scandens* existe dans les légères dépressions sur les versants.

L'évolution du *Bulbostyleto-Xyridetum* vers un stade arbustif n'apparaît pas ; les quelques exemplaires de *Bartiera Laurentii* qu'on y trouve restent rares et isolés. Il pourrait être possible

que, dans certains cas, un passage puisse cependant être réalisé vers le *Stipularieto-Syzygietum*.

8° Les associations décrites dans les *esobe* humides et tourbeux laissent apparaître une succession de groupements évoluant dans le lit des ruisseaux depuis le stade *Utricularieto-Nymphaeetum*, *Sphagnetum*, *Jardineetum*, *Schizachyrietum*, *Rhynchosporietum* vers un stade arbustif à *Stipularia* et *Syzygium* dans des endroits où le lit présente quelques élargissements ou cuvettes riches en eau (anciennes mares) et favorisant l'installation d'îlots de forêt marécageuse. Ces îlots s'agrandissent grâce à des bordures arbustives pionnières : *Stipularieto-Syzygietum*. La forêt prend peu à peu possession du lit entier de la rivière vers l'amont comme vers l'aval ; elle semble pouvoir s'élargir mais plus difficilement sur les pentes occupées par le *Bulbostyleto-Xyridetum*. La forêt marécageuse est le climax de cette succession.

Nous avons aussi constaté la présence d'individus isolés d'*Hyparrhenia diplandra* dans le *Bulbostyleto-Xyridetum*. Nous ne pouvons pourtant pas en conclure qu'il y aurait une évolution de cette association vers un *Hyparrhenietum*, donc un passage de l'*esobe* humide vers l'*esobe* sec. On ne pourrait le comprendre qu'à la suite d'un changement très important du sol tourbeux comme un exondement particulièrement intense ou après un incendie.

9° La végétation des *esobe* secs est du type savane à hautes herbes avec arbres très espacés et bas. Elle est installée sur sols limoneux ou sableux ou graveleux.

10° Les associations sont peu nombreuses :

a) La plus répandue est l'*Hyparrhenietum diplandrae*, prairie de hauts *Hyparrhenia diplandra* accompagnés de diverses graminées : *Setaria restioidea* et *sphacelata*, *Rytachne rottboelloides*, *Brachiaria Kotschyana*, *Rhynchelytrum amethysteum*, et de *Osbeckia congolensis*, *Indigofera capitata*, *Emilia sagittata*...

Il s'agit d'un *Hyparrhenietum* comparable à ceux que l'on rencontre dans les savanes périphériques de la Cuvette.

b) Un faciès dans lequel l'*Hyparrhenietum* est colonisé par des arbustes pyrophytes comme *Annona arenaria* et *Nauclea latifolia* : *Hyparrhenietum diplandrae* faciès à *Annona arenaria*.

c) Le *Gleichenietum linearis* existe dispersé dans l'*esobe* et le long des lisières forestières.

d) Associée à cette association, une formation arbustive plus dense et plus diversifiée que le faciès à *Annona* avec : *Annona arenaria*, *Nauclea latifolia*, *Harungana madagascariensis*, *Anthocleista Liebrechtsiana*, *Pentaclethra Eetveldeana*, *Albizzia* sp.

Ce groupement permet l'installation des espèces de la forêt de terre ferme et forme aussi la lisière entre l'*esobe* sec et la forêt de terre ferme. Il s'est révélé particulièrement riche dans l'*esobe* M'Bolo, là où le sol comporte une certaine épaisseur de limon.

11° Cette progression de la forêt aux dépens de l'*esobe* peut se présenter de deux manières :

1) Lorsque le sol est limoneux ; l'introduction forestière dans l'*Hyparrhenietum* se fait de manière évidente, mais lorsque le feu de brousse a ravagé les *esobe*, l'évolution peut se faire en sens inverse de manière tout aussi évidente : le faciès à *Annona* gagnant au détriment de la forêt. LÉONARD a signalé des cas analogues d'*esobe* secs portant une savane d'origine anthropique. Il y a donc dans ce cas, fluctuation entre *esobe* sec et forêt ;

2) Lorsque le sol est sableux ou graveleux (gravillons limoniques), l'*Hyparrhenietum* que nous y avons observé se présente sous son aspect herbeux pur ou sous un faciès arbustif pauvre. Sur ces terrains, l'impression se fait jour que l'implantation des arbustes est lente et le progrès de ceux-ci écologiquement difficile.

Nous avons cependant constaté que là où il y a des contacts entre ces types d'*esobe* secs et la forêt de terre ferme, celle-ci peut apparaître envahissante par une bordure d'arbustes et d'arbres pionniers. Ce sont les mêmes que ceux que nous avons signalés pour les *esobe* établis sur terrains limoneux.

Nous concluons que les *esobe* secs sont destinés à subir l'envahissement de la forêt de terre ferme qui progresse dans le faciès à *Annona* de l'*Hyparrhenietum* avec vigueur sur sol limoneux et avec difficulté sur sol sableux ou graveleux.

12° Les processus d'alluvionnement ont été décrits ; ils s'aper-

çoivent aujourd'hui clairement le long des rives ; ils aboutissent à l'édification de digues à sols sableux ou graveleux disposées plus ou moins en ligne, parallèlement au rivage du lac et des rivières qui s'y jettent. Ces *restingaes* finissent par atteindre le niveau des hautes eaux et par affleurer.

Elles laissent entre elles et les rives, des zones d'alluvionnement moins intense, où l'eau séjourne de manière quasi permanente et forme un marécage. Nous avons montré que ces dépôts alluvionnaires se sont constitués à la faveur des végétations de prairies flottantes qui ont permis sous leur couvert la sédimentation de matériaux relativement grossiers, tandis que l'alluvionnement en matériaux très fins (sable blanc) s'est réalisé plus lentement dans les marais emprisonnés entre ces *restingaes* et les rives.

13° Les *restingaes* ont porté d'abord les graminées des prairies flottantes qui se sont enracinées. L'étape suivante a été l'installation de l'*Hyparrhenietum diplandrae* que nous avons décrit.

Nous avons déterminé de la sorte deux séries d'associations phytosociologiquement distinctes, l'une aboutissant au climax de la forêt de terre ferme, l'autre au climax de la forêt marécageuse.

14° Préalablement à ces phénomènes d'alluvionnement, nous avons considéré que, pendant les périodes pluviales, l'érosion a dû enlever le limon éolien quaternaire qui couvrait la Cuvette et a désagrégé dans les vallées et les dépressions lacustres, la dalle limonitique sous-jacente, dégageant les sables et le kaolin du sous-sol.

15° Les deux séries phytosociologiques des *esobe* ont une origine édaphique. Leur évolution est déterminée d'une part par les phénomènes d'alluvionnement et, d'autre part, par l'abaissement du niveau du lac Tumba, qui a libéré progressivement des régions submergées.

La végétation des *esobe* secs est apparentée à celle des savanes qui ont occupé l'Afrique centrale à la fin du Tertiaire. Elle en est un vestige relativement pauvre en tant que première colonisatrice de sols en voie de constitution.

La végétation des *esobe* humides a dû apparaître vers l'époque où les cours d'eau se sont réinstallés en Afrique centrale et où le climat s'est réhumidifié.

*Institut pour la Recherche scientifique en
Afrique centrale*

Centre de l'Équateur (Mabali)

et

Université de Liège

Institut de Botanique.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ANGOULVANT : Les Indes néerlandaises (Paris, 1926).
- [2] AUBREVILLE, A. : Érosion et « bovalisation » en Afrique noire française (*Agronomie tropicale* 78, 1947).
- [3] AUBREVILLE, A. : Contribution à la paléohistoire des forêts de l'Afrique tropicale (Paris, 1949).
- [4] AUBREVILLE, A. : Climats, forêts et désertification de l'Afrique tropicale (Paris, 1949).
- [5] AUBREVILLE, A. : Flore forestière soudano-guinéenne (Paris, 1950).
- [6] BARTHOLOMEW : Carte du Congo belge in Ch. SAROLEA, The economic expansion of the Congo Free State (*The Scott. Geogr. Mag.*, 21, 1905).
- [7] BERNARD, E. : Le climat écologique de la Cuvette centrale congolaise (Publ. I.N.É.A.C., Bruxelles, 1945).
- [8] BERTRAND : Le Congo belge (Bruxelles, 1909).
- [9] BOUILLENNE, R. : Savanes équatoriales en Amérique du Sud (*Bull. Soc. roy. Bot. de Belg.*, T. 58, 1926).
- [10] BOUILLENNE, R. : Un voyage botanique dans le Bas-Amazone (Imprimerie médicale et scientifique, Bruxelles, 1929).
- [11] BOUILLENNE, R., MOUREAU, J. et DEUSE, P. : Esquisse écologique des faciès forestiers et marécageux des bords du lac Tumba (Ac. roy. Sc. col., Cl. Sc. nat. méd., mém. in-8°, nouv. série, III, 1, 1955).
- [12] BULTOT, F. : Saisons et périodes sèches et humides au Congo belge et au Ruanda-Urundi (Bruxelles, 1954).
- [13] CAHEN, L. : Géologie du Congo belge (Liège, 1954).
- [14] DE HEINZELIN, J. : Sols, paléosols et désertification ancienne dans le secteur nord-oriental du bassin du Congo (Publ. I.N.É.A.C., Bruxelles, 1952).
- [15] DE LÉENHEER, L., D'HOORE, J. et Sys : Cartographie et caractérisation pédologique de la *catena* de Yangambi (Publ. I.N.É.A.C., Série Sc., 55, 1952).
- [16] DEUSE, P. : Les *esobe* du lac Tumba (*Folia Scient. Africae Centr.*, 1, 4, 1955).
- [17] DEVROEY, E.-J. : Observations hydrographiques du bassin congolais (1932-1958) (*Mém. in-8°, Acad. roy. Sc. colon.*, V, 1, 1959).
- [18] DE WILDEMAN, E. : Études sur la flore des districts des Bangala et de l'Ubangi (*Plantae Thonn. Cong.*, Série 11, Bruxelles, 1911).
- [19] DE WILDEMAN, E. : Documents pour l'étude de la géobotanique congolaise (*Bull. Soc. Roy. Belg.*, 51, 5, 1913).

- [20] DUBOIS, J. : Note sur la chimie des eaux du lac Tumba (*Folia Scient. Africae Centr.*, 1, 4, 1955).
- [21] DUVIGNEAUD, P. : Les savanes du Bas-Congo. Essai de phytosociologie topographique (*Le jeunia*, Mém. n° 10, 1949).
- [22] DUVIGNEAUD, P. : La flore et la végétation du Congo méridional (*Le jeunia*, T. 16, 1952).
- [23] FIEVEZ : Du lac Tumba au lac Léopold II (*La Belgique Coloniale*, 11, 4, 1896).
- [24] GERMAIN, R. : Les associations végétales de la plaine de la Ruzizi en relation avec le milieu (Publ. I.N.É.A.C., Série Sc. 52, 1952).
- [25] I.N.É.A.C. : Chutes de pluie au Congo belge et au Ruanda-Urundi pendant la décade 1940-1949 (Bruxelles, 1951).
- [26] I.N.É.A.C. : Bulletin climatologique annuel du Congo belge et du Ruanda-Urundi (Années 1950, 1951, 1952, 1953, 1954 et 1955).
- [27] I.N.É.A.C. : Flore du Congo belge et du Ruanda-Urundi (Vol. I à VI, Bruxelles).
- [28] KÖPPEN, W. : Das Geographische System der Klimate (in W. KÖPPEN und R. GEIGER, Handbuch der Klimatologie, Berlin I. C. 1936).
- [29] LAURENT, R. : A propos de l'origine des *esobe* de la région équatoriale (*Folia Scient. Africae centr.*, 1, 4, 1955).
- [30] LEBRUN, J. : La forêt équatoriale congolaise (*Bull. agro. Congo belge*, 27, 1936).
- [31] LEBRUN, J. : Répartition de la forêt équatoriale et des formations végétales limitrophes (Bruxelles, 1936).
- [32] LEBRUN, J. et GILBERT, G. : Une classification écologique des forêts du Congo belge (Publ. I.N.É.A.C., Ser. Scient. n° 63, 1954).
- [33] LECOINTE, P. : L'Amazonie brésilienne (Paris, 1922).
- [34] LELEUP, N. : (*Folia Scient. africae centr.*, T. II, 1, 1956).
- [35] LÉONARD, J. : Contribution à l'étude de la végétation des bains d'éléphants au Congo belge (Publ. Soc. Roy. Bot., T. 84, 1951).
- [36] LÉONARD, J. : Les divers types de forêts du Congo belge (*Le jeunia* 16, 1952).
- [37] LÉONARD, J. : Les groupements végétaux (in *Encyclopédie du Congo belge*, T. I, Bruxelles).
- [38] MARLIER, G. : Recherches hydrobiologiques au lac Tumba (*Hydrobiologia*, X, 1958).
- [39] MILANKOVITCH, M. : Mathematische Klimalehre und Astronomische Theorie der Klimaschwankungen (in KÖPPEN, W. und GEIGER, R., Handbuch der Klimatologie, 1, A, Berlin, 1930).
- [40] MILDBRAED, J. : Das Regenwald im Aequatorialem Afrika (Notizbl. Bot. Cart. Mus. Berlin-Dahlem, T. VIII. (78), 1923).
- [41] MOISEL : Die Grenzen des Zentral und Westafrikanischen Urwaldes (Mitt. Deutsch. Schutz grb, 30, 1917).
- [42] MOUREAU, J. : Observations microclimatiques en 1956, au bord du lac Tumba (*Bull. Soc. roy. Sc., Liège*, 28, 1 et 2, 1959).
- [43] MORTELMANS, G. : Coup d'œil sur la préhistoire congolaise (*Bull. Soc. roy. belg. Géogr.*, 73, 3-4, 1949).

- [44] MULLENDERS, W. : La végétation de Kaniama (Publ. I.N.É.A.C., Sér. Scient., n° 61, 1954).
- [45] RAMAUT, J. : Étude de l'origine de l'acidité naturelle des tourbières acides de la Baraque Michel (Ac. Roy. Belg., A. Sc. 5^e Série, T. 41, 1955).
- [46] RAMAUT, J. : Extraction et purification de l'un des produits responsables de l'acidité des eaux des hautes tourbières et secrété par *Sphagnum* (Ac. roy. Belg., Cl. Sc., 5^e Série, T. 41, 1955).
- [47] ROBERT, M. : Le Congo physique (2^e édition, Bruxelles, 1942).
- [48] ROBERT, M. : Géologie et géographie du Katanga (Bruxelles, 1956).
- [49] ROBIJNS, W. : La flore et la végétation du Congo belge (*Revue des questions scientifiques*, mars-mai 1930).
- [50] ROBIJNS, W. : Contribution à l'étude des formations herbeuses du district forestier central du Congo belge (Inst. R. Col. Belge, Sect. Sc. nat. méd., mém. in-4°, V, 1, 1936).
- [51] ROBIJNS, W. : La forêt équatoriale congolaise est-elle discontinue ? (Journées d'Agronomie coloniale, 29-30 janvier 1937).
- [52] ROBIJNS, W. : Note écologique sur quelques bains d'éléphants au Congo belge (Inst. R. Col. Belge, *Bulletin des Séances*, XII, 2, 1941).
- [53] ROLAND : Carte du territoire de Lukolela (Inst. Cart. milit., Bruxelles, 1928).
- [54] SHAGERSTROM : La reconnaissance du lac Tumba (*La Belgique Coloniale*, 11, 52, 1896).
- [55] SCHNELL, R. : La forêt dense. Introduction à l'étude botanique de la région forestière d'Afrique occidentale (Paris, 1950).
- [56] STANER, P. : Quelques aspects de la végétation des environs d'Eala (Équateur, Congo belge) (C. R. Assoc. franç. avanc. des Sciences, Bruxelles, 1932).
- [57] THONNER : Im Afrikanischen Urwald (Berlin, 1898).
- [58] TROUPIN : La végétation du Parc national de la Garamba (Uele, Congo belge) (Thèse de doctorat. Univ. de Liège, 1956) (inédit).
- [59] VAN STRAELEN, V. : A propos de l'existence de galets éoliens sous le sol en un point de la forêt équatoriale congolaise (*Bull. Inst. Roy. Colon. Belge*, 12, 82-91, 1941).

INDEX DES NOMS SCIENTIFIQUES

- Adenia* sp.
Aframomum Melegueta (RGSE) SCHUM.
Albizzia Laurentii DE WILD.
Albizzia ferruginea (GUILL. et PERROT) BENTH.
Alchornea cordifolia MUELL. ARG.
Annona arenaria THONN.
Anthocleista Liebrechtsiana DE WILD et DUR.
Anthocleista Schweinfurthii GILG.
Auranella congolensis (DE WILD) A. CHEV.
Axonopus sp.
Baikiaea insignis (OLIV.) J. LÉONARD
Baikiaea insignis sbsp. *minor* (OLIV.) J. LÉONARD
Baphia sp.
Berlinia grandiflora HUTCH et DALZ.
Bartiera Laurentii DE WILD.
Brachiaria Kotschyana STAPF.
Brachystegia Laurentii (DE WILD.) LOUIS
Bridelia ferruginea BENTH.
Bulbostylis laniceps C. B. CLARKE
Bulbostylis densa (WALL.) HAND. MAZ.
Bulbostylis abortiva (STEUD.) CLARKE
Burmanningia Welwitschii SCHLTR.
Caloncoba Welwitschii GILG.
Chlorophora excelsa BENTH.
Ceiba Thonningii A. CHEV.
Cercestis congoensis ENGL.
Clappertonia ficiifolia (WILD) DEENE
Clerodendron Thomsonae BAILL.
Cnestis ferruginea D. C.
Cnestis urens GILG.
Copaifera sp.
Culcasia scandens BEAUV.
Cynometra Schlechteri HARMS.
Cyrtosperma senegalense ENGL.
Dicranopteris linearis (BURM.) UNDERWOOD
Dissotis segregata (BENTH.) HOOK.
Dissotis phaeotricha TRIANA
Dissotis multiflora TRIANA
 Passifloracées.
 Zingibéracées.
 Légumineuses.
 Légumineuses.
 Euphorbiacées.
 Annonacées.
 Loganiacées.
 Loganiacées.
 Sapotacées.
 Graminées.
 Caesalpiniciacées.
 Caesalpiniciacées.
 Légumineuses.
 Légumineuses.
 Rubiacées.
 Graminées.
 Légumineuses.
 Euphorbiacées.
 Cypéracées.
 Cypéracées.
 Cypéracées.
 Burmanniacées.
 Flaccourtiacées.
 Moracées.
 Bombacées.
 Aracées.
 Tiliacées.
 Verbénacées.
 Connaracées.
 Connaracées.
 Caesalpiniciacées.
 Aracées.
 Caesalpiniciacées.
 Aracées.
 Fougères.
 Mélastomacées.
 Mélastomacées.
 Mélastomacées.

<i>Dissotis Brazzae</i> COGN.	Mélastomacées.
<i>Dissotis incana</i> TRIANA	Mélastomacées.
<i>Dracaena reflexa</i> LAM.	Agavacées.
<i>Drosera congolana</i> TATON.	Droséracées.
<i>Echinochloa pyramidalis</i> (LAM.) HITCH et CHASE	Graminées.
<i>Eleocharis variegata</i> (POIR.) PRESL.	Cypéracées.
<i>Elaeis guineensis</i> JACQ.	Palmacées.
<i>Emilia sagittata</i> D. C.	Compositacées.
<i>Entandophragma angolense</i> C. D. C.	Méliacées.
<i>Entandophragma utile</i> SPRAGUE	Méliacées.
<i>Eremospatha macrocarpa</i> WENDL.	Palmacées.
<i>Eriocaulon</i> sp.	Eriocaulacées.
<i>Eriosema glomeratum</i> HOOK.	Papilionacées.
<i>Erythrophleum guineense</i> G. DON.	Caesalpiniacées.
<i>Eulophia caricifolia</i> (REICHB.) SUMMERH.	Orchidacées.
<i>Fagara macrophylla</i> (OLIV.) ENGL.	Rutacées.
<i>Ficus</i> sp.	Moracées.
<i>Fuirena stricta</i> STEUD.	Cypéracées.
<i>Gaertnera occidentalis</i> BAILL.	Loganiacées.
<i>Guibourtia Demeusei</i> (HARMS) LÉONARD	Caesalpiniacées.
<i>Habenaria</i> sp.	Orchidacées.
<i>Harungana madagascariensis</i> LAM.	Guttiféracées.
<i>Heteranthea guineensis</i> (FRANCH) ROBYNS	Graminées.
<i>Hippocratea miriantha</i> OLIV.	Hippocratacées.
<i>Hypparrhenia diplandra</i> (HACK) STAPF.	Graminées.
<i>Imperata cylindrica</i> (L.) BEAUV. var. <i>africana</i> (ANDERSS.) C. E. HUBB.	Graminées.
<i>Indigofera capitata</i> KOTSCH.	Légumineuses.
<i>Ipomoea apera</i> C. H. WRIGHT	Convolvulacées.
<i>Jardinea congoensis</i> FRANCH.	Graminées.
<i>Jardinea gabonensis</i> STEUD.	Graminées.
<i>Lannea Welwitschii</i> ENGL.	Anacardiacees.
<i>Lonchocarpus griffonianus</i> (BAILL.) DUNN.	Papilionacées.
<i>Loranthus</i> sp.	Loranthacées.
<i>Loudetia phragmitoides</i> HUBBARD	Graminées.
<i>Loudetia Vanderystii</i> HUBBARD	Graminées.
<i>Lycopodium carolinianum</i> L.	Lycopodiacees.
<i>Lycopodium cernuum</i> L.	Lycopodiacees.
<i>Lygodium scandens</i> S. W.	Schizéacées.
<i>Macaranga spinosa</i> MUELL-ARG.	Euphorbiacées.
<i>Mesanthemum radicans</i> KOERN.	Eriocaulacées.
<i>Mikania</i> sp.	Compositacées.
<i>Milletia Laurentii</i> DE WILD.	Légumineuses.
<i>Mitragyna stipulosa</i> (DC) O. KUNTZE	Rubiacees.
<i>Monodora angolensis</i> WELW.	Annonacées.
<i>Morus</i> sp.	Moracées.

<i>Murdannia simplex</i> (VA IL) BREMAN	Commélinacées.
<i>Musanga cecropioides</i> R. BR.	Moracées.
<i>Myrianthus arboreus</i> P. BEAUV.	Moracées.
<i>Nauclea latifolia</i> SM.	Rubiacées.
<i>Neurotheca congolana</i> DE WILD. et DUR.	Gentianacées.
<i>Nymphaea Lotus</i> L.	Nymphéacées.
<i>Nymphaea</i> sp.	Nymphéacées.
<i>Ongokea</i> Gore (HUA) PI ERRE.	Olacacées.
<i>Osbeckia congolensis</i> COEN.	Mélastomacées.
<i>Oubanguia Laurentii</i> DE WILD.	Tiliacées.
<i>Ouatea callophylla</i> (HOOK.) ENGL.	Ochnacées.
<i>Panicum Dregeanum</i> N. ES.	Graminées.
<i>Panicum nervatum</i> (FRANCH) STAFF.	Graminées.
<i>Panicum parvifolium</i> LAM.	Graminées.
<i>Parinari</i> sp.	Rosacées.
<i>Pennisetum purpureum</i> SCHUM.	Graminées.
<i>Pentaclethra Eetveldeana</i> DE WILD et DUR.	Légumineuses.
<i>Pentaclethra macrophylla</i> BENTH.	Légumineuses.
<i>Phoenix reclinata</i> JACQ.	Palmacées.
<i>Piptadeniastrum africanum</i> (HOOK.) KEAY	Légumineuses.
<i>Polygonum pulchrum</i> BLUME.	Polygonacées.
<i>Potamogeton</i> sp.	Potamogetonacées.
<i>Pseudochinoleana polystachya</i> STAFF.	Graminées.
<i>Psorospermum tenuifolium</i> HOOK.	Hypéricacées.
<i>Pycnanthus angolensis</i> (WELW.) EXELL	Myristicacées.
<i>Randia octomera</i> HOOK.	Rubiacées.
<i>Raphia Laurentii</i> DE WILD.	Palmacées.
<i>Rhynchelytrum repens</i> (WILD) HUBBARD	Graminées.
<i>Rhynchelytrum roseum</i> STAFF.	Graminées.
<i>Rhynchospora corymbosa</i> (L.) BRITTON.	Cypéracées.
<i>Rhynchospora candida</i> C. B. CL.	Cypéracées.
<i>Rhynchospora glauca</i> VAHL.	Cypéracées.
<i>Rhynchospora Testui</i> CHERM.	Cypéracées.
<i>Rytachne rotiboeillioide</i> DESV.	Graminées.
<i>Scleria Bequaertii</i> DE WILD.	Cypéracées.
<i>Scleria hirtella</i> SWARTZ.	Cypéracées.
<i>Scleria melanomphala</i> KUNTH.	Cypéracées.
<i>Scleria nyasensis</i> C. B. CLARKE.	Cypéracées.
<i>Schizachyrium kwiluei</i> se VANDERYST.	Graminées.
<i>Scirpus confervoides</i> P. BIR.	Cypéracées.
<i>Sclerosperma</i> sp.	Palmacées.
<i>Selaginella scandens</i> L. BEAUV.	Sélaginellacées.
<i>Setaria restioides</i> (FRANCH) STAFF.	Graminées.
<i>Setaria sphacelata</i> STAFF. et HUBBARD	Graminées.
<i>Sida linifolia</i> L.	Malvacées.
<i>Sphagnum planifolium</i> C. MULL.	Sphagnales.
<i>Sphagnum planifolium</i> var. <i>congolatum</i> WARNST.	Sphagnales.

<i>Staudtia stipitata</i> WARB.	Myristicacées.
<i>Stipularia africana</i> BEAUV.	Rubiacées.
<i>Syzygium</i> aff. <i>cordatum</i>	Myrtacées.
<i>Tacazzea pedicellata</i> SCHUM.	Asclépiadacées.
<i>Tetracera alnifolia</i> WILLD.	Dilléniacées.
<i>Torenia parviflora</i> HAM.	Scrophulariacées.
<i>Trichopteryx fruticulosa</i> CHIOV.	Graminées.
<i>Uapaca guineensis</i> MUELL. ARG.	Euphorbiacées.
<i>Uapaca Heudelottii</i> BAILL.	Euphorbiacées.
<i>Utricularia Gilletii</i> DE WILD, et DUR.	Lentibulariacées.
<i>Utricularia subulata</i> L.	Lentibulariacées.
<i>Utricularia Thonningii</i> SCHUMACH.	Lentibulariacées.
<i>Utricularia tortilis</i> WELW.	Lentibulariacées.
<i>Vigna</i> sp.	Papilionacées.
<i>Vigna multiflora</i> HOOK.	Papilionacées.
<i>Vossia cuspidata</i> GRIFF.	Graminées.
<i>Xylopia rubescens</i> OLIV.	Annonacées.
<i>Xyris decipiens</i> var. <i>Vanderystii</i> MALMÖ	Xyridacées.
<i>Xyris congensis</i> BUTTER	Xyridacées.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	3
I. Historique de l'exploration de la région du lac Tumba	5
II. Le cadre géographique	7
III. Le cadre phytogéographique	12
IV. Le cadre climatique	15
V. Détermination des facteurs microclimatiques	29
A. A l'emplacement du Beach	31
B. Dans les <i>esobe</i>	35
1. <i>Esobe</i> humide	35
2. <i>Esobe</i> sec	38
C. Dans la forêt de terre ferme	42
D. Comparaison des stations entre elles	46
1. <i>Esobe</i> humide et <i>esobe</i> sec	46
2. <i>Esobe</i> et Beach	48
3. Beach et sous-bois forestier	49
VI. Étude de la végétation des <i>esobe</i> de la rive Est du lac Tumba	56
1. <i>Esobe</i> au nord du poste de Tondo	57
2. <i>Esobe</i> de la rivière Membe inférieure	59
3. <i>Esobe</i> de la Membe moyenne	63
4. <i>Esobe</i> de l'I.R.S.A.C.	66
VII. Étude phytosociologique des <i>esobe</i> du lac Tumba	69
1. Groupements aquatiques	70
2. Groupements des <i>esobe</i> humides	71

ÉTUDE DE LA VÉGÉTATION DES « ESOBE »	115
a. Semi-aquatiques	71
b. Tourbeux exondés	74
3. Groupements des <i>esobe</i> secs	82
VIII. Étude des digues en bordure du lac et des rivières ainsi que des prairies flottantes	84
IX. Évolution de la végétation des <i>esobe</i>	87
X. Considérations sur l'origine des <i>esobe</i>	92
XI. Conclusions	100
BIBLIOGRAPHIE	107
INDEX DES NOMS SCIENTIFIQUES	110

1891-1892



FIG. 1. — Tapis de *Sphagnum planifolium* sur l'eau d'un ehaha.



FIG. 2. — *Jardinea gabonensis* en gros touradons.



FIG. 3. — *Stipularia africana* s'installant dans l'association
à *Rhynchospora corymbosa*.

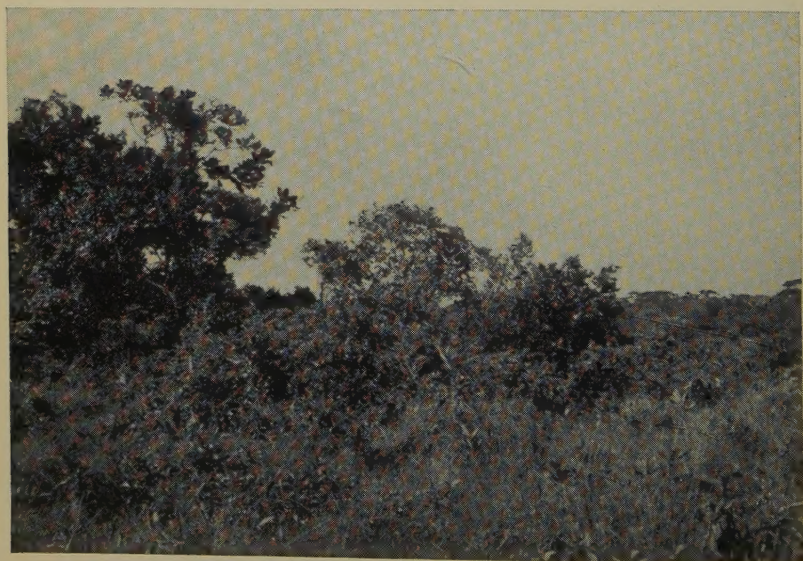


FIG. 4. — Association arbustive à *Stipularia africana* et *Syzygium* aff.
cordatum dans l'esobe humide.



FIG. 5. — *Hyparrhenietum diplandrae* de restinga.
La forme de la digue est nettement visible.



Fig. 6. — Faciès à *Annona arenaria* de l'*Hyparrhenietum*.

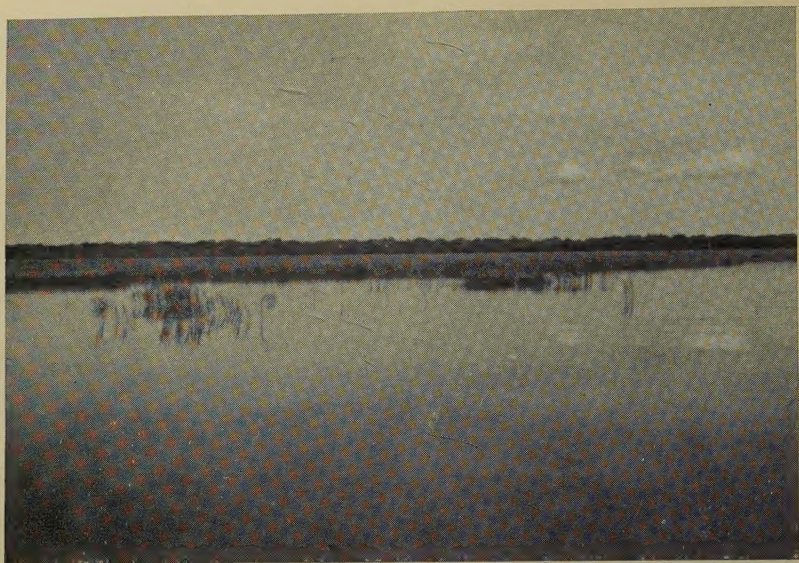


FIG. 7. — Prairie flottante à *Vossia cuspidata* et *Jardinea gabonensis* couvrant toute une baie à l'embouchure de la Ngange.

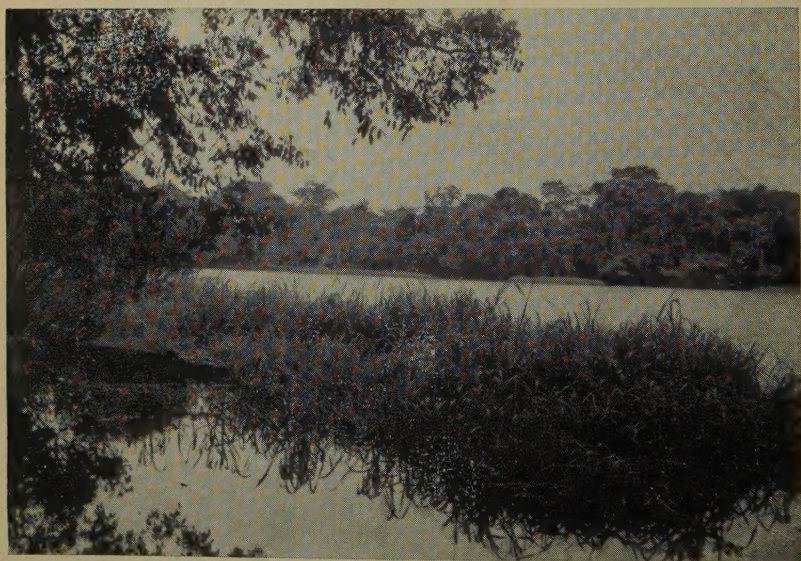


FIG. 8. — Fragment de prairie flottante à *Vossia cuspidata* et *Echinochloa pyramidalis*.